Aus der Neurologischen Klinik
(Direktor: Prof. Dr. H.-J. Freund)
und dem Lehrstuhl für klinische Biochemie
und der biochemischen Abteilung
des Diabetes-Forschungsinstitutes,
Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Reinauer)

Die Bestimmung nicht-eiweißgebundener Antikonvulsivakonzentrationen im Ultrafiltrat des Plasmas und im Speichel

Praktische Bedeutung in der Therapieüberwachung von Epileptikern

DISSERTATION
Zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
IRIS VOLLRATH und THOMAS STEVENS

1984

[illegible]
LIBRARY
[illegible]

Aus der Neurologischen Klinik
(Direktor: Prof. Dr. H.-J. Freund)
und dem Lehrstuhl für klinische Biochemie
und der biochemischen Abteilung
des Diabetes-Forschungsinstitutes,
Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Reinauer)

Die Bestimmung nicht-eiweißgebundener Antikonvulsivakonzentrationen im Ultrafiltrat des Plasmas und im Speichel

Praktische Bedeutung in der Therapieüberwachung von Epileptikern

DISSERTATION
Zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
IRIS VOLLRATH und THOMAS STEVENS

1984

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. H. Th. Brüster

Referent
gez.: Prof. Dr. K. V. Toyka

Korreferent
gez.: Prof. Dr. H. Reinauer

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Patienten	5
3.	Methoden	7
3.1.	Analytische Methoden	7
3.2.	Statistische Auswertungsmethoden	11
4.	Ergebnisse	13
4.1.	Verarbeitung der Plasma- und Speichelproben	13
4.2.	Empfindlichkeit und Präzision der Methoden	13
4.2.1.	Genauigkeit und Intraassay-Präzision im Plasma-Ultrafiltrat mit 1:10 verdünnten Kalibratoren	14
4.2.2.	Genauigkeit und Interassay-Präzision im Plasma-Ultrafiltrat mit 1:10 verdünnten Kalibratoren	15
4.2.3.	Genauigkeit und Intraassay-Präzision im Speichel mit 1:10 verdünnten Kalibratoren	16
4.2.4.	Genauigkeit und Interassay-Präzision im Speichel mit 1:10 verdünnten Kalibratoren	17
4.2.5.	Freie und gebundene Clonazepamspiegel	18
4.2.6.	Freie- und Gesamtspiegel von Valproinat	18
4.3.	Ergebnisse der Analysen des freien Plasmaspiegels nach Ultrafiltration	19
4.3.1.	Vergleich zwischen Neueinstellung und Dauertherapie	19
4.3.1.1.	Freie Plasmaspiegel bei Neueinstellung auf ein Antikonvulsivum	19
4.3.1.2.	Freie Plasmaspiegel bei Dauertherapie	19
4.3.1.3.	Vergleich des mittleren freien Plasmaspiegels (in %) bei Neueinstellung und Dauertherapie	19

		Seite
4.3.2.	Auswirkungen von Kombinationstherapien	21
4.3.2.1.	Auswirkungen einer Kombinationstherapie mit zwei Antikonvulsiva auf den relativen freien Plasmaspiegel der Primärsubstanz	21
4.3.2.1.1.	Freie Plasmaspiegel bei zusätzlicher Neueinstellung auf ein zweites Antikonvulsivum	21
4.3.2.1.2.	Freie Plasmaspiegel bei Dauertherapie mit zwei Antikonvulsiva	21
4.3.2.1.3.	Vergleich zwischen Kombinationstherapie und Monotherapie	21
4.3.2.2.	Auswirkungen zusätzlicher nicht-antikonvulsiver Medikamente auf den relativen freien Plasmaspiegel von Antikonvulsiva	23
4.3.3.	Nicht-medikamentöse Einflüsse auf die Plasma-Proteinbindung von Anitkonvulsiva	26
4.3.3.1.	Einflüsse geringgradiger Abweichungen der Leber- und Nierenfunktion auf die Proteinbindung (freie Spiegel)	26
4.3.3.2.	Korrelation zwischen der Proteinbindung (freie Spiegel) der Antikonvulsiva und der Konzentration von Gesamteiweiß, Albumin, Globulinen im Plasma und von Hämoglobin	28
4.3.4.	Abhängigkeit der freien Spiegel von der Plasmakonzentration der Antikonvulsiva	45
4.3.5.	Interindividuelle Unterschiede des relativen freien Plasmaspiegels	55
4.3.6.	Intraindividuelle Schwankungen des relativen freien Plasmaspiegels	56

		Seite
4.4.	Ergebnisse der Analysen der Speichelspiegel der Antikonvulsiva	57
4.4.1.	Vergleich der Medikamentenspiegel in Parotis- und Gesamtspeichel mit dem freien Plasmaspiegel	57
4.4.1.1.	Bestimmung der Medikamentenkonzentration im Gesamtspeichel	57
4.4.1.2.	Bestimmung der Medikamentenkonzentration im Parotisspeichel	57
4.4.1.3.	Vergleich der Konzentrationen im Speichel mit den freien Plasmaspiegeln	58
4.4.2.	Abhängigkeit der relativen Speichelspiegel von der Gesamtplasmakonzentration der Antikonvulsiva	61
4.4.3.	Einzelbeobachtungen verschiedener Patienten über einen längeren Zeitraum	66
4.5.	Zusammenfassung der Ergebnisse	82
4.5.1.	Ergebnisse der Analysen des freien Plasmaspiegels nach Ultrafiltration	82
4.5.1.1.	Vergleich zwischen Neueinstellung und Dauertherapie	82
4.5.1.2.	Auswirkungen von Kombinationstherapien	82
4.5.1.2.1.	Auswirkungen einer Kombinationstherapie mit zwei Antikonvulsiva auf den relativen freien Plasmaspiegel der Primärsubstanz	82

		Seite
4.5.1.2.2	Auswirkungen zusätzlicher nicht-antikonvulsiver Medikamente auf den relativen freien Plasmaspiegel von Antikonvulsiva	83
4.5.1.3.	Nicht-medikamentöse Einflüsse auf die Plasmaproteinbindung von Antikonvulsiva	83
4.5.1.3.1.	Einflüsse geringgradiger Abweichungen der Leber- und Nierenfunktion auf die Proteinbindung (freie Spiegel)	83
4.5.1.3.2.	Korrelation zwischen der Proteinbindung (freie Spiegel) der Antikonvulsiva und der Konzentration verschiedener Bindungsproteine	84
4.5.1.4.	Abhängigkeit der freien Spiegel von der Gesamtkonzentration der Antikonvulsiva	84
4.5.1.5.	Interindividuelle Unterschiede des relativen freien Plasmaspiegels	84
4.5.1.6.	Intraindividuelle Schwankungen des relativen freien Plasmaspiegels	85
4.5.2.	Ergebnisse der Analysen der Speichelspiegel der Antikonvulsiva	85
4.5.2.1.	Vergleich der Medikamentenspiegel im Parotis- und Gesamtspeichel mit dem freien Plasmaspiegel	85
4.5.2.2.	Abhängigkeit der relativen Speichelspiegel von der Gesamtplasmakonzentration der Antikonvulsiva	85
4.5.2.3.	Einzelbeobachtungen verschiedener Patienten über einen längeren Zeitraum	86

		Seite
5.	Diskussion	87
6.	Zusammenfassung	103
7.	Literaturverzeichnis	104

1. Einleitung

Die Sicherheit der antiepileptischen Therapie konnte durch die Einführung der analytischen Methodik zur Bestimmung von Plasmakonzentrationen erheblich verbessert werden. Während einige grundlegende Arbeiten zur Pharmakokinetik und therapeutischen Wirksamkeit noch mit einfachen kolorimetrischen Methoden (Kutt, Penry 1974; Bochner et al. 1974; Troupin, Friel 1975; Hamilton, Wallace 1978) entstanden, sind erst durch die modernen radio- und enzym-immunologischen Verfahren Untersuchungen größerer Kollektive und zahlreicher Medikamente möglich geworden (Schmidt 1976; Schottelius 1978). Erst dadurch konnte auch eine regelmäßige Bestimmung von Antikonvulsiva - Plasmaspiegeln in die Praxis des "Therapeutic Drug Monitoring" eingeführt werden.

Bei der Mehrzahl der klinisch eingesetzten antiepileptischen Medikamente besteht eine lineare, aber interindividuell variable Abhängigkeit zwischen Plasmakonzentration und antiepileptischer Wirkung (Buchthal et al. 1960; Buchthal, Svensmark 1971; Fröscher et al. 1980). Eine Ausnahme bilden Medikamente, die nicht direkt an der Zellmembran von Neuronen (und Glia) wirken, sondern erst über metabolische Intermediärschritte antikonvulsive Effekte erzielen (zum Beispiel Valproinat (Schmidt 1981)). Bei diesen Medikamenten besteht eine weniger enge und für Valproinat auch nicht genau bekannte Konzentrations - Wirkung - Beziehung.

Bedeutung der Proteinbindung von Pharmaka:
Alle Pharmaka werden je nach Hydrophobie oder Hydrophilie der Substanz bei physiologischem pH mehr oder weniger stark an Plasma - Eiweiße gebunden.

Nach Resorption eines Antikonvulsivums stellt sich rasch ein Gleichgewichtszustand im Plasma - Kompartiment her, in dem ein Teil der Gesamtmenge an Proteine (Albumin, Globuline) (Schmidt 1981) gebunden, der andere im Plasmawasser frei gelöst ist. Dieser freie Anteil ist zwischen den einzelnen Körper - Kompartimenten rasch verschiebbar, er steht daher mit den freien Spiegeln in diesen im Fließgleichgewicht. Dies gilt auch für die Blut - Hirn - Schranke, die von jedem Antikonvulsivum überwunden werden muß, um an den Wirkort (Gehirn) zu gelangen (Pippenger et al. 1975; Woodbury, Fingl 1975).

Von kritischer Bedeutung ist die Proteinbindung aber bei Anwendung mehrerer Medikamente zur gleichen Zeit. Handelt es sich um hoch - eiweißgebundene Substanzen, so kann es durch Konkurrenz um die Proteinbindungsstellen zu einer deutlich ausgeprägten Verschiebung des Gleichgewichtszustandes zwischen freiem und gebundenem Anteil beider Substanzen mit wesentlicher Erhöhung der freien, d. h. der pharmakologisch relevanten Plasmaspiegel kommen (Rodin et al. 1981; Koch et al. 1981). Einzelne Befunde in der Literatur zeigten in vivo und in vitro, daß Faktoren wie Leber- oder Nierenerkrankungen, gleichzeitig verabreichte Antikonvulsiva oder zusätzliche nichtantikonvulsive Medikamente die Proteinbindung der Primärsubstanz maßgeblich ändern können. Phenytoin ist im Hinblick auf diese Parameter besonders gut untersucht (Patsalos, Lascelles 1977 a; Fröscher et al. 1980; Kinniburgh, Boyd 1981; Koch et al. 1981). Des weiteren sind auch die Auswirkungen endogener Substanzen wie zum Beispiel freier Fettsäuren auf die Proteinbindung von Valproinat untersucht worden. Patel und Levy (1979) stellten fest, daß in Gegenwart freier Fettsäuren die freien Valproinatspiegel signifikant ansteigen, während andere Antikonvulsiva keinen Einfluß auf die Proteinbindung von Valproinat haben. Ebenso erhöhten Phenylbutazon und Salizyl-

säure den freien Valproinatspiegel (Fleitman et al. 1980).

Seit den Untersuchungen von Johanessen, Strandjord (1973); Schmidt, Kupferberg (1975); Troupin, Friel (1975); Lund et al. (1979) und Monaco et al. (1982) ist belegt, daß die freien Konzentrationen von Antikonvulsiva im Plasma denen im Liquor entsprechen. Auch Speichelkonzentrationen spiegeln im allgemeinen freie Plasmaspiegel wieder. Da freie Plasmaspiegel enger mit den Konzentrationen am Wirkort korrelieren und sie damit pharmakodynamisch ein besserer Parameter sein müßten, haben sich einige Arbeitsgruppen mit der Messung dieser freien Spiegel befaßt (Lund et al. 1972; Bochner et al. 1974; Monaco et al. 1979; Paxton, Donald 1980). Der methodische Aufwand dieser Untersuchungen - meist Ultrafiltration - Dialyse - Septum - sowie die mangelnde Empfindlichkeit der früher angewendeten analytischen Methoden haben es jedoch nicht erlaubt, größere Serien - Untersuchungen durchzuführen, mit deren Hilfe allein die praktische Bedeutung der theoretischen Überlegenheit dieser Untersuchungen beurteilt werden kann.

In der praktischen therapeutischen Situation ist die Frage entscheidend, in welchem Ausmaß die oben aufgeführten Mechanismen zum Tragen kommen. Unser Ziel war es daher, die Brauchbarkeit der Messung freier Medikamentenspiegel unter üblichen klinisch - therapeutischen Gegebenheiten eines ambulanten und stationären neurologischen Patientengutes zu überprüfen.

Mit der Technik der Ultrafiltration durch standardisierte und kommerziell erhältliche Mikrofilter und anschließender enzymimmunologischer Konzentrationsbestimmung steht ein schnelles und sicheres Verfahren zur Verfügung, das sich für routinemäßige Blutspiegelkontrollen an größeren Untersuchungs-

serien eignet. Die Konzentrationsbestimmungen der Pharmaka im Speichel sollten als nichtinvasive Alternative der Probengewinnung und gleichzeitige körpereigene Ultrafiltration in die Untersuchung mit einbezogen und die Ergebnisse beider Methoden miteinander verglichen werden. Unsere Befunde weisen darauf hin, daß sich beide Bestimmungsmethoden zur Erfassung freier Spiegel gut eignen, die klinische Bedeutung im Rahmen des "Therapeutic Drug Monitoring" aber auf besondere Patientengruppen beschränkt bleibt.

2. Patienten

Unsere Untersuchung bezog sich auf 104 erwachsene Epileptiker, die sich in ambulanter oder stationärer neurologischer Behandlung befanden. Es handelte sich um 70 Männer und 34 Frauen im Alter von 15 bis 77 Jahren.

Bis auf Abweichungen der Leberenzyme und der Parameter der renalen Ausscheidungsfunktion um weniger als $\pm$ 50 % vom mittleren Normalwert (GOT ♀ 5 - 15 U/l, ♂ 5 - 17 U/l; GPT ♀ 5 - 19 U/l, ♂ 5 - 17 U/l; Cholesterin $<$ 230 mg/dl; Triglyceride $<$ 170 mg/dl; γ-GPT ♀ 6 - 28 U/l, ♂ 4 - 18 U/l; Bilirubin $<$ 1 mg/dl; Harnsäure $<$ 4,5 mg/dl; Kreatinin $<$ 1,8 mg/dl; Alk. Phosphatase: Erwachsene 40 - 190 U/l, Kinder 151 - 471 U/l) bei 20 Patienten waren die internistischen Befunde ohne Besonderheiten. Die Bluteiweißwerte lagen bei allen Patienten im Normbereich. Acht Patienten nahmen regelmäßig Herzglykoside, neun Bezodiazepin - Schlafmittel, siebenundvierzig sonstige Medikamente (wie zum Beispiel Neuroleptika, Antidiuretika, krampflösende Medikamente, Antihistaminika, Cortisonpräparate, Antikoagulantien) und vier Patienten standen unter Antibiotikatherapie mit Penicillin.

Die Patienten wurden aufgrund ihrer Medikation in vier Gruppen eingeteilt

- Gruppe 1

  Patienten, die seit mindestens drei Wochen unter regelmäßiger Behandlung mit einem Antikonvulsivum standen (n = 32)

- Gruppe 2

  Patienten, die über drei Wochen zwei oder mehr Antikonvulsiva in gleicher Dosierung erhielten (n = 17)

- Gruppe 3

  Patienten, die mit Monotherapie nach mehr als 3 Wochen nicht ausreichend eingestellt waren und auf ein zweites Antikonvulsivum zusätzlich eingestellt wurden (n = 10)

- Gruppe 4

  Patienten, die erstmals auf **ein** Antikonvulsivum eingestellt wurden (n = 45)

Verabreichte Antikonvulsiva waren:

Carbamazepin	(Tegretal^{R})
Phenytoin	(z.B. Zentropil^{R}, Phenhydan^{R})
Primidon	(Mylepsinum^{R})
Valproinat	(z.B. Ergenyl^{R}, Leptilan^{R})
Clonazepam	(Rivotril^{R})

Hinsichtlich Alter, Geschlecht, Normabweichungen der Leberenzyme oder Parameter der renalen Ausscheidungsfunktion und Zusatzmedikation waren die Gruppen annähernd gleich zusammengesetzt.

3. Methoden

3.1. Analytische Methoden

Venöses Blut wurde morgens vor Einnahme der ersten Dosis, also in der Regel 10 bis 12 Stunden nach der letzten Einnahme, mit Hilfe eines Vacutainer^{R} - Röhrchens entnommen. Als Antikoagulantien dienten EDTA und - sofern es sich um valproinathaltiges Blut handelte - Heparin. Anschließend wurde sofort 30 Min bei 3000/min zentrifugiert und das Ultrafiltrat gewonnen (siehe unten). Alle Proben wurden bei - 20° C bis zur Analyse aufbewahrt.

Gleichzeitig wurden bei 40 Patienten nach Stimulierung des Speichelflusses mit Vitamin-C-Tabletten (50 mg), die für ca. 15 Min. auf die Zunge gelegt wurden, Gesamtspeichel- und Parotisspeichelproben gewonnen. Zunächst wurde der Gesamtspeichel entnommen. Dazu wurden die Patienten aufgefordert, ca. 5 ml Speichel in ein Sputumröhrchen zu spucken. Anschließend erfolgte die Entnahme des Parotisspeichels. Dazu verwendeten wir dünne Polyäthylenschläuche, deren eines Ende über einer Flamme spitz ausgezogen worden war. Das spitze Ende wurde in den Parotisausführungsgang eingeführt. Der Speichelfluß konnte durch Massieren der Drüse noch beschleunigt werden. Die ersten Tropfen des klaren Sekrets wurden verworfen. Das Probevolumen wurde in Eppendorfhütchen aufgefangen. 1 ml genügte für die Analysen. Nach Zentrifugieren (3000/min) des Gesamtspeichels wurde der klare Überstand abpipettiert und ebenso wie der Parotisspeichel bei - 20° C bis zur Analyse aufbewahrt.

Zum Filtrieren der Plasma- und Speichelproben verwendeten wir Ultrafiltrations-Einmalfilter (ULTRAFREE^{R}, Worthington Diagnostics, Freehold, NJ 07728, MW cut off von 40 000). Am Ansatz der Filtereinheiten wurde jeweils eine

1 ml Luer-Kanüle befestigt und nach Aspirieren durch Unterdruck 1 ml Ultrafiltrat je Probe gewonnen (Jung et al. 1981).

Zur Konzentrationsbestimmung wurde ein ENI-GEMSAEC-Zentrifugenanalysator (Elektro-Nucleonics Inc., Fairfield, NJ 07006) mit Auswerteprogramm (EMIT-aed-Programm, Syva Corp., Palo Alto, California, USA 94304; adaptiert an den GEMSAEC) verwendet. Die genaue Dosierung der Reagenzien erfolgte über einen Gemeni-Loader (Elektro-Nucleonics Inc., Fairfield, NJ 07006); die Konzentrationen und Eichkurven wurden über einen angeschlossenen Decwriter (Decwriter^{R}, Elektro-Nucleonics Inc., Fairfield, NJ 07006) ausgedruckt.

Die für die Gesamtspiegelbestimmungen verwendeten Kalibratoren und Kontrollen wurden für die Bestimmung der freien Spiegel mit menschlichem Plasma-Ultrafiltrat 1:10 verdünnt - außer bei Primidon und Phenobarbital, wo die unverdünnten Kalibratoren ausreichend sind - um den Meßbereich des EMIT an die geringeren Konzentrationen der freien Plasma- und Speichelspiegel anzupassen.

Der EMIT-aed-Enzymimmunoassay (Syva Corp., Palo Alto, California, USA 94304) besteht aus folgenden Reagenzien:

Reagenz A: es enthält spezifische Antikörper gegen das zu messende Medikament und die Enzym-Substrate Glucose-6-phosphat und Nicotinamidadenindinucleotid und Stabilisatoren in einem 0,055 M Tris-HCl Puffer von pH 5,0 (Valproinatassay: pH 5,2).

Reagenz B: es enthält das mit Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase markierte Medikament und Konservierungsstoffe in 0,055 M Tris-HCl Puffer von pH 7,9 (Valproinatassay: pH 8,0).

AED-Puffer Lösung: ein 0,055 M Tris-HCl Puffer von pH 7,9 mit einem oberflächenaktiven Mittel.

AED-Kalibratorsatz und AED-Kontrollserum: sie enthalten genau bekannte Konzentrationen der zu untersuchenden Antikonvulsiva. (Arbeitsanleitung zum EMIT-aed assay)

Alle Reagenzien werden in lyophilisierter Form geliefert und müssen nach Vorschrift mit aqua bidest gelöst werden.

Bei der Durchführung einer EMIT-aed-Bestimmung werden die Proben zunächst mit Reagenz A vermischt. Die Antikörper binden das gesamte in der Probe befindliche Medikament. Nach Zugabe von Reagenz B werden alle noch freien Antikörper-Bindungsstellen durch das enzymmarkierte Medikament belegt und dadurch das Enzym inaktiviert. Die restliche, nicht gebundene Enzymaktivität ist der Konzentration des in der Probe vorliegenden Medikaments proportional. Das Coenzym NAD wird dabei in NADH überführt; die dabei auftretende Extinktionszunahme pro Zeiteinheit wird photometrisch gemessen (Arbeitsanleitung zum EMIT-aed assay).

Zur Kontrolle der Methode mit 1:10 verdünnten Kalibratoren wurden Standards hergestellt und mehrfach bestimmt. Dazu wurde Reinsubstanz der jeweiligen Antikonvulsiva-Wirkstoffe (Carbamazepin: Ciba Geigy, Wehr/Baden; Phenytoin: Parke Davis, München; Primidon: ICI-Pharma, Plankstadt; Phenobarbital: Bayer, Leverkusen) in aqua bidest (Carbamazepin, Primidon, Phenobarbital) beziehungsweise 0,9 % NaCl-Lösung (Phenytoin) eingewogen und bis zur vollständigen Lösung geschüttelt. Über Verdünnungsreihen wurden anschließend die in den

Tabellen 1 bis 4 aufgeführten Standards hergestellt. Die Verdünnung erfolgte zunächst mit aqua bidest beziehungsweise 0,9 % NaCl-Lösung und im letzten Schritt mit normalem menschlichen Plasma-Ultrafiltrat oder Speichel (Paxton et al. 1977; Kießling 1979). Eine Verdünnung der Kalibratoren für Primidon und Phenobarbital war nicht erforderlich, da der EMIT-Meßbereich auch die niedrigen Konzentrationen freier Spiegel erfaßt.

In Abweichung vom EMIT-aed-Supplement für den GEMSAEC-Zentrifugenanalysator (EMIT-aed-Supplement; Application of EMIT-aed assays to the ENI-GEMSAEC-Centrifugal fast analyzer; Syva Corp., Palo Alto, California September 1980) wurden folgende Werte und Einstellungen benutzt:

- Ansatz der Reagenzien A und B für einen Rotor: 0,4 ml Reagenz
  4,8 ml Puffer
- Beschicken des Rotors
  Bucht C: 10 µl Probe und 250 µl Ansatz A
  Bucht B: 250 µl Ansatz B
- Die Positionen des Rotors wurden wie folgt beschickt:
  Position 1: Ansatz A und B, keine Probe
  Position 2 bis 6: Ansatz A und B und Kalibratoren 1 bis 5
  Position 7: Ansatz A und B und Kontrolle
  Position 8 bis 16: Ansatz A und B und Probe

Anschließend wurde 5 Minuten bei 30° C inkubiert.

- Einstellungen am Auswerte-Computer:
  Temp 30° C, IR 10, RI 15, NR 6, Wellenlänge 340 nm, Filterposition 335 - 385 nm.

3.2. Statistische Auswertungsmethoden

In Teil 1 wurden für die verschiedenen freien Plasmaspiegel Regressionsanalysen im Vergleich zum Gesamtplasmaspiegel errechnet; eine entsprechende Auswertung erfolgte im 2. Teil für die Speichelspiegel im Vergleich zu den Blutspiegeln.

Die Gesamtplasmakonzentrationen der Antikonvulsiva betrugen in unserem Kollektiv:

für Carbamazepin	0,5 - 15,0 µg/ml
für Phenytoin	1,0 - 50,0 µg/ml
für Primidon	1,5 - 21,0 µg/ml
für Phenobarbital	3,0 - 52,0 µg/ml
für Valproinat	23,0 - 130,0 µg/ml

Da sich anhand der empirischen Daten (Streudiagramm) eher eine log-normale Verteilung der Konzentrationen zeigte, wurden die Variablen zuvor log-transformiert.
Zur Kontrolle der Meßfehler wurden die Korrelationskoeffizienten statistisch gegen 0 geprüft ($\alpha = 0{,}05$).

Bei den Vergleichen zwischen den einzelnen Gruppen wurde auf die Durchführung statistischer Signifikanztests bewußt verzichtet, da es sich bei den Patienten um keine zufällige Auswahl aus größeren Gesamtheiten handelte, über die mit Hilfe von Stichproben hätten Aussagen gemacht werden sollen; vielmehr wurden die Patienten für die Untersuchung anhand von Ein- und Ausschlußkriterien zusammengestellt. Die Ergebnisse gelten daher zunächst für

die in die Studie aufgenommenen Patienten. Eine Verallgemeinerung auf andere Patienten kann sich nur auf eine möglichst umfassende statistische Beschreibung des vorliegenden Patientengutes als Induktionsbasis stützen (Weber 1980).

Alle Berechnungen erfolgten über das BMDP - Programm (BMDP Statistical Software, Dixon 1981).

4. Ergebnisse

4.1. Verarbeitung der Plasma- und Speichelproben

Nach der Zentrifugation wurden die Proben bei - 20° C aufbewahrt. Kontrollexperimente, bei denen gleichzeitig gewonnene Blutproben jeweils eines Patienten

a) sofort, nach 2 Stunden oder nach 6 Stunden zentrifugiert und

b) bei 24° C, 8° C oder - 20° C bis zu 14 Tage aufbewahrt wurden,

zeigten keine signifikanten Unterschiede im Meßergebnis.

Jede Probe wurde unter anschließender Mittelwertbildung 4-fach bestimmt.

4.2. Empfindlichkeit und Präzision der Methoden

Um den Enzymimmunoassay (EMIT) den geringeren Konzentrationen der freien Plasma- und Speichelspiegel anzupassen, verdünnten wir die Kalibratoren für Carbamazepin und Phenytoin mit normalem menschlichen Plasmaultrafiltrat im Verhältnis 1:10 (Bartels et al. 1977; Kießling 1979). Bei Primidon und Phenobarbital war wegen der geringen Eiweißbindung eine Verdünnung nicht erforderlich, da hierbei die freien Spiegel im Meßbereich der unverdünnten Kalibratoren liegen.

Zur Kontrolle der Methode wurden Experimente mit Standards bekannter Konzentration im jeweils unteren und oberen Meßbereich durchgeführt. Die Bestimmung der Intra- und Interassaypräzision erfolgte für Plasma und Speichel.

4.2.1. Genauigkeit und Intraassay - Präzision im Plasma - Ultrafiltrat mit 1:10 verdünnten Kalibratoren

Tabelle 1

Medikament	tatsächliche Menge (µg/ml)	mittlere gemessene Menge (µg/ml)	Anzahl der Messungen	S.D.	VK (%)	Wiederfindung (%)
Carbamazepin	0,4	0,4	9	0,1	12,2	103
	3,5	3,4	9	0,4	4,1	98
Phenytoin	0,4	0,4	9	0,0	7,3	103
	2,5	2,6	9	0,1	3,5	103
Primidon*	2,0	2,1	9	0,2	8,3	103
	10,0	10,0	9	0,6	6,2	103
Phenobarbital*	2,5	2,5	9	0,1	2,8	98
	40,0	41,5	9	1,9	4,5	104

* = unverdünnte Kalibratoren

S.D. = Standardabweichung des Mittelwertes

VK = Variationskoeffizient

Um die Präzision der Methode innerhalb eines Assays zu überprüfen, wurde eine Plasmaprobe bekannter Konzentration mit **einem** Ansatz der Reagenzien A und B 9-fach bestimmt. Dies entspricht der Probenkapazität eines GEMSAEC-Rotors (Paxton et al. 1977). Die gewonnenen Ergebnisse gibt Tabelle 1 wieder.

4.2.2. Genauigkeit und Interassay - Präzision im Plasma - Ultrafiltrat mit 1:10 verdünnten Kalibratoren

Tabelle 2

Medikament	mittlere gemessene Menge (µg/ml)	Anzahl der Assays	S.D.	VK (%)
Carbamazepin	0,4	5	0,0	7,7
	3,5	5	0,1	2,9
Phenytoin	0,4	5	0,1	12,2
	2,5	5	0,1	4,4
Primidon*	2,1	5	0,2	9,5
	10,9	5	0,6	5,8
Phenobarbital*	2,6	5	0,1	3,8
	40,8	5	1,1	2,7

* = unverdünnte Kalibratoren

S.D. = Standardabweichung des Mittelwertes

VK = Variationskoeffizient

Zur Bestimmung der Präzision zwischen verschiedenen Assays wurden dieselben Proben bekannter Konzentration mit 5 verschiedenen Ansätzen der Reagenzien A und B in 5 aufeinanderfolgenden Analysenläufen bestimmt (Paxton et al. 1977). Die Ergebnisse zeigt Tabelle 2.

4.2.3. Genauigkeit und Intraassay - Präzision im Speichel mit 1:10 verdünnten Kalibratoren

Tabelle 3

Medikament	tatsächliche Menge (µg/ml)	mittlere gemessene Menge (µg/ml)	Anzahl der Messungen	S.D.	VK (%)	Wiederfindung (%)
Carbamazepin	0,4	0,4	9	0,0	7,3	103
	1,5	1,6	9	0,1	5,8	104
Phenytoin	0,4	0,4	9	0,1	11,6	108
	2,5	2,6	9	0,1	2,0	102
Primidon*	2,0	2,0	9	0,2	9,5	100
	10,0	9,4	9	0,6	6,5	94
Phenobarbital*	2,5	2,5	9	0,1	5,2	100
	40,0	41,4	9	1,9	4,6	104

* = unverdünnte Kalibratoren

S.D. = Standardabweichung des Mittelwertes

VK = Variationskoeffizient

Zur Überprüfung der Methode mit verdünnten Kalibratoren im Speichel wurde eine Probe bekannter Konzentration mit **einem** Ansatz der Reagenzien A und B in einem Rotorlauf 9-mal hintereinander bestimmt (Paxton et al. 1977). Die Resultate gehen aus Tabelle 3 hervor.

4.2.4. Genauigkeit und Interassay - Präzision im Speichel mit 1:10 verdünnten Kalibratoren

Tabelle 4

Medikament	mittlere gemessene Menge (µg/ml)	Anzahl der Assays	S.D.	VK (%)
Carbamazepin	0,4	5	0,0	10,0
	1,5	5	0,1	3,3
Phenytoin	0,4	5	0,0	7,0
	2,6	5	0,1	3,9
Primidon*	2,2	5	0,2	6,9
	10,3	5	0,6	5,5
Phenobarbital*	2,4	5	0,1	2,9
	38,7	5	1,0	2,6

* = unverdünnte Kalibratoren

S.D. = Standardabweichung des Mittelwertes

VK = Variationskoeffizient

Die Präzisionsbestimmung zwischen verschiedenen Assays für Speichelanalysen erfolgte durch Analyse derselben Proben bekannter Konzentration in 5 aufeinanderfolgenden Analysenläufen, wobei die Reagenzien A und B jeweils neu angesetzt wurden (Paxton et al. 1977). Die Ergebnisse stehen in Tabelle 4.

4.2.5. Freie und gebundene Clonazepamspiegel

Die Bestimmung gebundener und freier Clonazepamspiegel war nicht möglich, da diese im ng-Bereich und damit unterhalb der Empfindlichkeitsgrenze des EMIT liegen.

4.2.6. Freie- und Gesamtspiegel von Valproinat

Bei Valproinat ließen sich lediglich Gesamtspiegel mit ausreichender Genauigkeit bestimmen (Izutsu et al. 1979). Freie Valproinatspiegel ließen sich nicht bestimmen, da bereits eine genaue Analyse der verdünnten Kalibratoren mit dem GEMSAEC nicht möglich war. Die photometrisch ermittelten Werte für diese Kalibratoren wichen bis zu 100 % vom Sollwert ab.

4.3. Ergebnisse der Analysen des freien Plasmaspiegels nach Ultrafiltration

4.3.1. Vergleich zwischen Neueinstellung und Dauertherapie

4.3.1.1. Freie Plasmaspiegel bei Neueinstellung auf ein Antikonvulsivum

Hierbei handelt es sich um die Patienten der Gruppe 4, die auf **ein** Antikonvulsivum neu eingestellt wurden. Für jedes Medikament wurde der Mittelwert der freien Plasmaspiegel errechnet und als relativer Anteil am Gesamtspiegel in % in Tabelle 5 aufgeführt.

4.3.1.2. Freie Plasmaspiegel bei Dauertherapie

Ebenso wurde für die Patienten der Gruppe 1, die bereits seit mindestens 3 Wochen auf **ein** Antikonvulsivum eingestellt waren, für jedes Medikament der mittlere relative freie Plasmaspiegel in % errechnet und in Tabelle 5 angegeben.

4.3.1.3. Vergleich des mittleren freien Plasmaspiegels (in %) bei Neueinstellung und Dauertherapie

Durch Vergleich der Gruppen 1 und 4 - beide mit Monotherapie - wurde untersucht, ob in den ersten 3 Wochen der Einnahme eines Antikonvulsivums andere relative freie Plasmaspiegel zu beobachten sind als bei dauernder Einnahme (>3 Wochen). Die Untersuchung wurde auf Monotherapie beschränkt,

um eventuelle überlagernde Effekte durch Interaktionen bei Kombinationstherapie auszuschließen.

Wie auf Tabelle 5 zu sehen ist, waren die mittleren relativen freien Plasmaspiegel bei Carbamazepin und Primidon auch nach längerer Einnahme unverändert. Bei Phenytoin zeigte sich jedoch bei Neueinstellung ein leicht erhöhter relativer freier Plasmaspiegel.

Tabelle 5

Vergleich der mittleren freien Plasmaspiegel (in %) bei Neueinstellung (Gruppe 4) und Dauertherapie (Gruppe 1)

Medikament	Gruppe	relativer freier Plasmaspiegel (%)	S.D.	r	n	Änderung des Spiegels (%)	Änderung von r (%)
Carbamazepin	1	19,4	4,3	0,9	14		
	4	19,6	8,3	0,8	58		
Phenytoin	1	8,9	4,2	0,9	12		
	4	10,6*	6,0	0,7*	14	+ 19,3	- 20,0
Primidon	1	74,8	9,7	0,9	16		
	4	71,3	13,7	0,9	11		

* = Veränderung gegenüber der Vergleichsgruppe (hier Gruppe 1)
Es werden nur Veränderungen über $\pm$ 10 % - also außerhalb des Methodenfehlers - angegeben

S.D. = Standardabweichung des Mittelwertes

r = Korrelationskoeffizient (BMDP Statistical Software; Dixon 1981)

n = Anzahl der Proben

4.3.2. Auswirkungen von Kombinationstherapien

4.3.2.1. Auswirkungen einer Kombinationstherapie mit zwei Antikonvulsiva auf den relativen freien Plasmaspiegel der Primärsubstanz

4.3.2.1.1. Freie Plasmaspiegel bei zusätzlicher Neueinstellung auf ein zweites Antikonvulsivum

In Gruppe 3 wurden die Patienten zusammengefaßt, die mit Monotherapie nicht ausreichend eingestellt waren und deshalb auf ein zweites Antikonvulsivum zusätzlich eingestellt wurden. Bei der Berechnung der mittleren relativen freien Plasmaspiegel wurde nicht nur nach der Primärmedikation mit Carbamazepin, Phenytoin oder Primidon unterschieden, sondern auch nach der Komedikation weiter in Untergruppen unterteilt. Die Werte sind in Tabelle 6 aufgeführt.

4.3.2.1.2. Freie Plasmaspiegel bei Dauertherapie mit zwei Antikonvulsiva

Hierbei handelt es sich um die Patienten der Gruppe 2. Auch hier wurde nicht nur nach der Primärmedikation unterschieden, sondern ebenfalls nach der Komedikation in Untergruppen unterteilt.

4.3.2.1.3. Vergleich zwischen Kombinationstherapie und Monotherapie

Durch diesen Vergleich sollte festgestellt werden, inwieweit eine Kombination verschiedener Antikonvulsiva den relativen freien Plasmaspiegel beeinflussen kann. Zum Vergleich wurden die in Tabelle 5 aufgeführten freien Spiegel bei Monotherapie seit mehr als 3 Wochen (Gruppe 1) herangezogen. Bei Kombinations-

therapie wurden die Gruppen 2 und 3 unterschieden.

Tabelle 6 gibt die Medikamentenkombinationen an und faßt die Ergebnisse zusammen. Wesentliche Veränderungen zeigte die Proteinbindung nur bei Primärmedikation mit Phenytoin; bei zusätzlicher Neueinstellung auf Valproinat vergrößerte sich der relative freie Phenytoinanteil um 32 %, andere zusätzliche Antikonvulsiva hatten keinen oder nur geringen Einfluß.

Tabelle 6

Relativer freier Plasmaspiegel bei Kombinationstherapie mit zwei Antikonvulsiva im Vergleich mit den Spiegeln bei Monotherapie

Primär-medikation	Gruppe	Komedi-kation	relativer freier Plasma-Spiegel (%)	S.D.	r	n	Änderung des Spie-gels (%)	Änderung von r (%)
Carbamazepin	1	-	19,4	4,3	0,9	14		
	2	Primidon	21,2	9,2	0,8*	11		- 11,8
	3	Clonazepam	22,1*	4,9	0,7*	8	+ 13,8	- 18,8
		Phenytoin	16,5*	5,9	0,6*	8	- 14,8	- 24,7
Phenytoin	1	-	8,9	4,2	0,9	12		
	3	Carbamazepin	9,7	6,4	0,3*	6		- 63,5
		Valproinat	11,8*	6,7	0,7*	9	+ 32,4	- 20,0
Primidon	1	-	74,8	9,7	0,9	16		
	2	Carbamazepin	67,3	11,6	0,9	22		

* = Veränderung gegenüber der Vergleichsgruppe (hier Gruppe 1)
Es werden nur Veränderungen über $\pm$ 10 % - also außerhalb des Methodenfehlers - angegeben

S.D. = Standardabweichung des Mittelwertes

r = Korrelationskoeffizient (BMDP, Statistical Software, Dixon 1981)

n = Anzahl der Proben

Bei der Berechnung wurden nur die Patientengruppen berücksichtigt, in denen mindestens 6 Patienten untersucht werden konnten, weshalb nicht in jeder der Kombinationstherapieformen alle Gruppen berücksichtigt sind.

4.3.2.2. Auswirkungen zusätzlicher nichtantikonvulsiver Medikamente auf den relativen freien Plasmaspiegel von Antikonvulsiva

Die Untersuchung bezog sich auf die angewandten Medikamente, die eine hohe - teilweise auch mittlere oder niedrige - Eiweißbindung im Plasma aufweisen und daher als Substanzen in Frage kommen, die mit den Antikonvulsiva um die Bindungsstellen konkurrieren (Schmidt 1981). Im therapeutischen Bereich liegt zwischen den meisten untersuchten Substanzen ein in etwa äquimolares Verhältnis vor:

Carbamazepin	3×10^{-5}M	Proteinbindung: 33 %
Phenytoin	4×10^{-5}M	90 %
Primidon	6×10^{-5}M	78 $\pm$ 9,5 %
Phenobarbital	9×10^{-5}M	49 %
Valproinat	$2{,}8 \times 10^{-4}$M	90 - 95 %
Bromazepam	3×10^{-7}M	70 %
Diazepam	2×10^{-6}M	96 %
Promethazin-HCl	1×10^{-8}M	92 %
Benzylpenizillin	6×10^{-6}M	84 %
Flurazepam-HCl	7×10^{-9}M	nur schwach
Penizillansäure	4×10^{-3}M	50 %

(Schmidt, 1981)

Als Vergleichsgruppe dienten diejenigen Patienten, die keines dieser zum Teil hocheiweißgebundenen Medikamente erhielten. Die relativen freien Plasmaspiegel dieser

Patienten sind in Tabelle 7 wiedergegeben. Anstelle einer Unterscheidung nach den Gruppen 1 bis 4 wurden hier diejenigen Patienten zusammengefaßt, die dasselbe Antikonvulsivum ohne nicht-antikonvulsive Zusatzmedikation erhielten.

Tabelle 7

Relativer freier Plasmaspiegel bei Patienten ohne nichtantikonvulsive Zusatzmedikation

Medikament	Gruppe	relativer freier Plasmaspiegel (%)	S.D.	r	n
Carbamazepin	Ø	20,8	8,0	0,8	96
Phenytoin	Ø	9,2	5,0	0,8	41
Primidon	Ø	70,4	12,2	0,9	47
Phenobarbital	Ø	40,9	14,3	0,9	10

S.D. = Standardabweichung des Mittelwertes

r = Korrelationskoeffizient (BMDP, Statistical Software, Dixon 1981)

n = Anzahl der Proben

Zum Vergleich wurden nun einzelne Patienten, die zu den Antikonvulsiva noch eins der oben genannten Zusatzmedikamente erhielten, in Tabelle 8 aufgeführt. Ein deutlicher Einfluß auf die Proteinbindung läßt sich nur in einem Fall erkennen (Patient 98). Nach Diazepamgabe am Vortag verringerte sich der relative freie Plasmaspiegel von Carbamazepin im Vergleich zu den Patienten ohne Diazepamzusatzmedikation erheblich (- 87 %). Die übrigen Ergebnisse liegen im Bereich der interindividuellen Streuung.

Tabelle 8

Plasmaspiegel von Antikonvulsiva (Einzelbeobachtungen) nach Zweit-Medikation mit nicht antikonvulsiven Medikamenten

Patient	Antikonvulsivum		Zusatzmedikament			relativer freier Antikonvulsivum-spiegel (%)	Änderung des relativen freien Spiegels (%)
	Wirkstoff	Gesamtkonzentration (µg/ml)	Name	Dosis/Tag	Wirkstoff		
29	Carbamazepin	4,9	Lexotanil	6 mg	Bromazepam	22,7	+ 9,0
11	Carbamazepin	4,4	Lexotanil	12 mg	Bromazepam	25,0	+ 20,0
98	Carbamazepin	5,9	Valium	10 mg	Diazepam	2,7	- 87,0*
100	Carbamazepin	6,9	Atosil	25 mg	Promethazin-HCl	22,2	+ 7,0
54	Carbamazepin	5,5	Atosil	25 mg	Promethazin-HCl	23,2	+ 12,0
16	Phenytoin	43,5	Lexotanil	24 mg	Bromazepam	8,5	- 8,0
83	Phenytoin	6,2	Penizillin	$1{,}8 \times 10^4$ mg	Benzylpenizillin - Diazepam - Natrium	8,7	- 6,0
23	Primidon	9,7	Dalmadorm	30 mg	Flurazepam-HCl	68,7	- 3,0
61	Primidon	6,9	Bayzillin 400	280 mg	6 (-Phenoxy-butyranido)-penizillansäure Propizillin	72,5	+ 3,0

* = Veränderung gegenüber der Vergleichsgruppe (siehe Tabelle 7)

Es werden jeweils Plasmaspiegel der Antikonvulsiva angegeben, die sich nach der Einnahme des nicht-antikonvulsiven Zusatzmedikamentes ermitteln ließen. Diese Werte wurden mit den Plasmaspiegeln in Tabelle 7 verglichen und die Änderung in % angegeben.

4.3.3. Nicht-medikamentöse Einflüsse auf die Plasma - Proteinbindung von Antikonvulsiva

4.3.3.1. Einflüsse geringgradiger Abweichungen der Leber- und Nierenfunktion auf die Proteinbindung (freie Spiegel)

Der relative freie Plasmaspiegel von Gesunden wurde mit dem von Patienten mit geringgradigen Abweichungen der Leber- und Nierenfunktion - ohne Berücksichtigung der Ursache - verglichen. Die Leberenzymwerte und Parameter der renalen Ausscheidungsfunktion wichen dabei nicht mehr als $\pm$ 50 % von der Altersnorm ab. Wie Tabelle 9 zeigt, konnte lediglich bei Carbamazepin eine leichte Erhöhung des relativen freien Plasmaspiegels festgestellt werden.

Tabelle 9

Relativer freier Plasmaspiegel bei Gesunden und Patienten mit Abweichungen der Leberenzymwerte und der Parameter der renalen Ausscheidungsfunktion

Medikament	Funktionsstörung von	relativer freier Plasmaspiegel (%)	S.D.	r	n	Änderung des Spiegels (%)	Änderung von r (%)
Carbamazepin	Keine	19,8	8,1	0,8	87		
	Niere	22,1*	4,8	0,6*	4	+ 11,2	- 21,0
	Leber	22,4*	6,7	0,9*	18	+ 13,1	+ 17,1
Phenytoin	Keine	9,5	5,0	0,8	43		
	Leber	9,8	5,3	0,3*	5		- 62,0
Primidon	Keine	70,6	11,4	0,9	36		
	Leber	69,6	134,9	0,9	13		

* = Veränderung gegenüber den Gesunden

Es werden nur Veränderungen über $\pm$ 10 % - also außerhalb des Methodenfehlers - angegeben

S.D. = Standardabweichung des Mittelwertes

r = Korrelationskoeffizient (BMDP, Statistical Software, Dixon 1981)

n = Anzahl der Proben

Tabelle 9 vergleicht die freien Plasmaspiegel von Gesunden mit denen von Patienten, die Abweichungen in der Leber- und Nierenfunktion haben. Dabei wurde nicht nach den Gruppen 1 bis 4 unterschieden, sondern nach den verabreichten Antikonvulsiva.

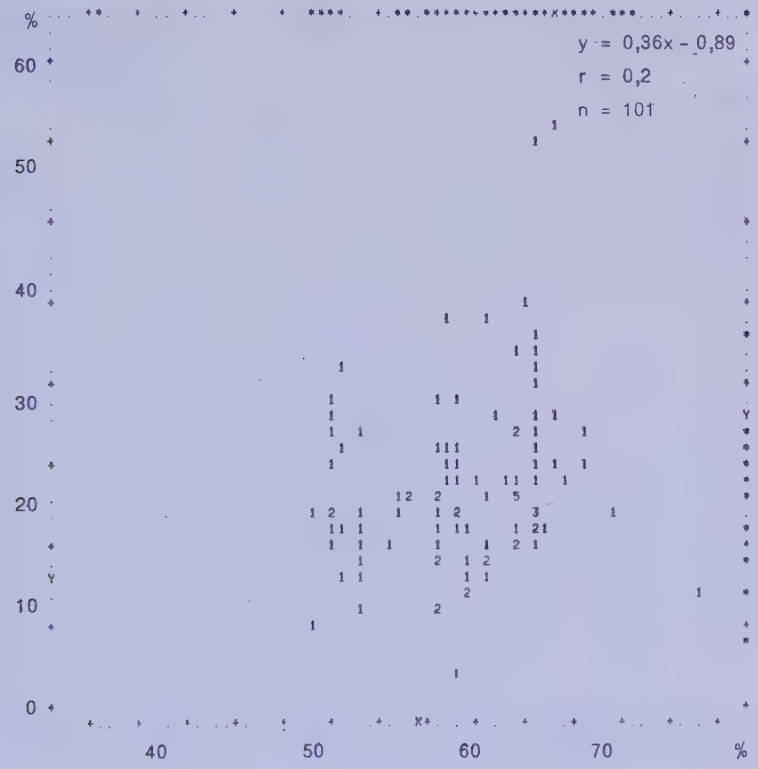
4.3.3.2. Korrelation zwischen der Proteinbindung (freie Spiegel) der Antikonvulsiva und der Konzentration von Gesamteiweiß, Albumin, Globulinen im Plasma und von Hämoglobin

Durch Vergleich des relativen freien Plasmaspiegels mit den Plasmaproteinen und der Hämoglobinkonzentration sollte überprüft werden, ob eine Korrelation zwischen diesen Parametern besteht. Dazu wurde jeweils der relative freie Plasmaspiegel der einzelnen Antikonvulsiva in Beziehung zu den einzelnen Proteinkonzentrationen gesetzt.

Wie alle Abbildungen einheitlich zeigen, besteht keine Korrelation zwischen diesen Parametern. Aus den Plasma - Proteinwerten kann im untersuchten Krankengut nicht die tatsächliche Bindungskapazität für Antikonvulsiva vorausgesagt werden. Da auch kein Trend erkennbar ist, wurde auf eine weitergehende, multifaktorielle Analyse verzichtet.

Abbildung 1

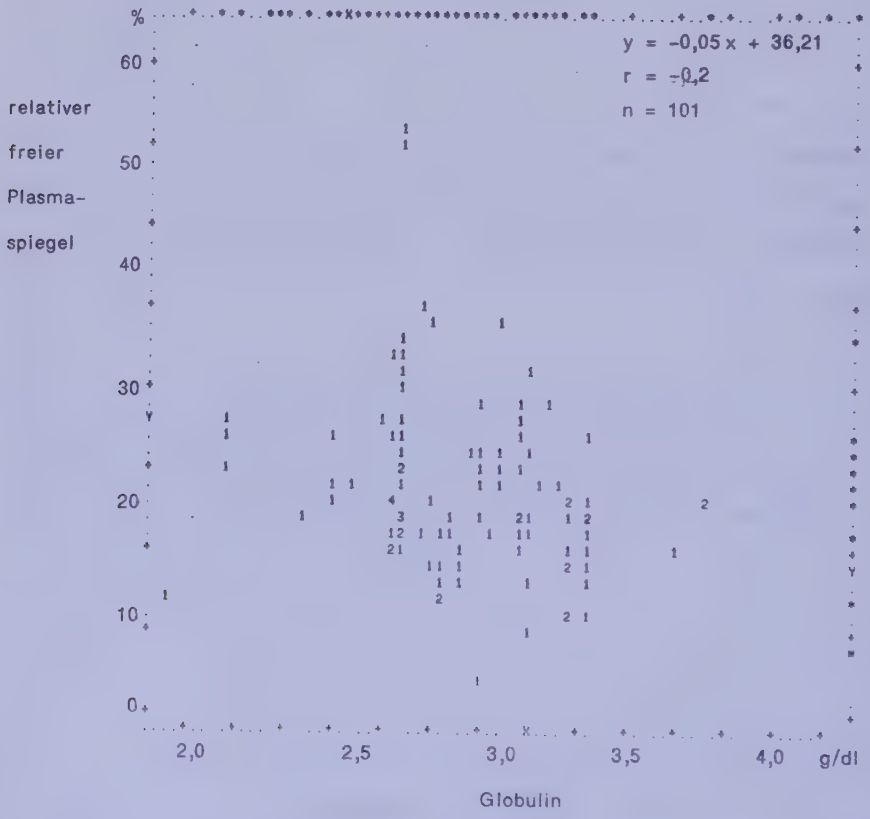
Der relative freie Plasmaspiegel von Carbamazepin in Abhängigkeit von der Albuminkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Carbamazepin mit der Albuminkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Albuminkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 2

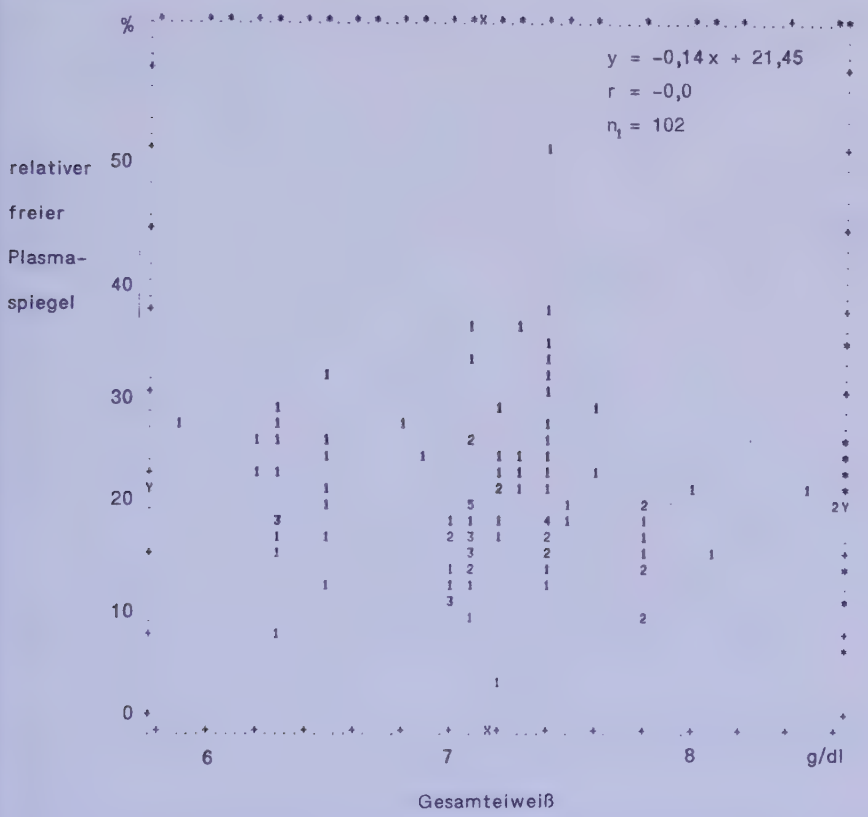
Der relative freie Plasmaspiegel von Carbamazepin in Abhängigkeit von der Globulinkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Carbamazepin mit der Globulinkonzentration im Plasma läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Globulinkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich

Abbildung 3

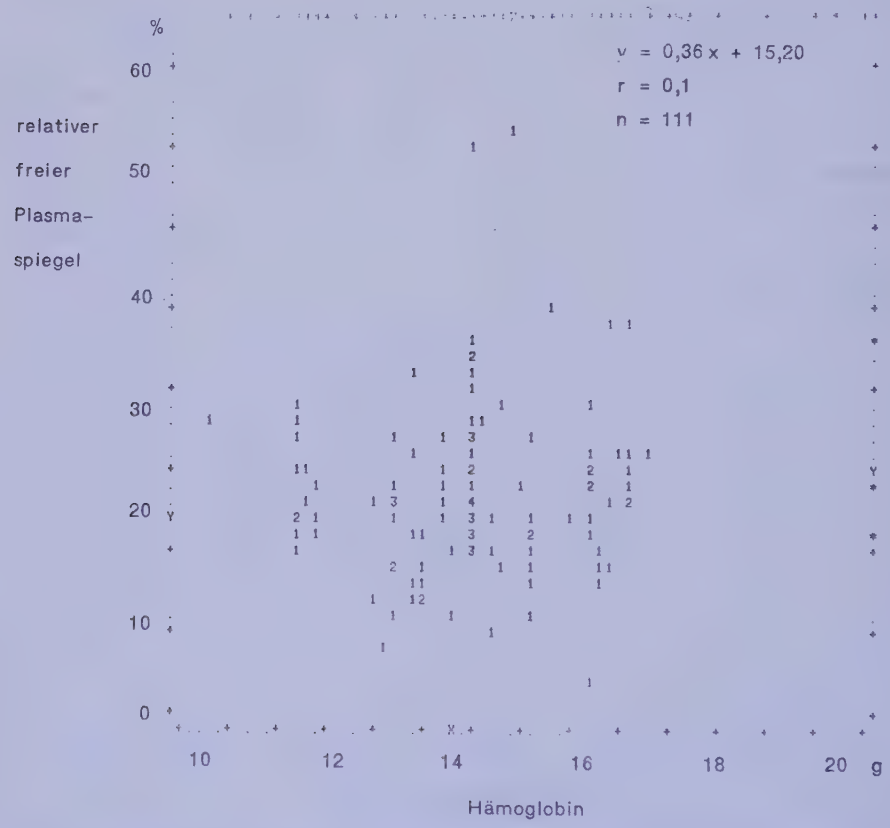
Der relative freie Plasmaspiegel von Carbamazepin in Abhängigkeit von der Gesamteiweißkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Carbamazepin mit der Gesamteiweißkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Gesamteiweißkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 4

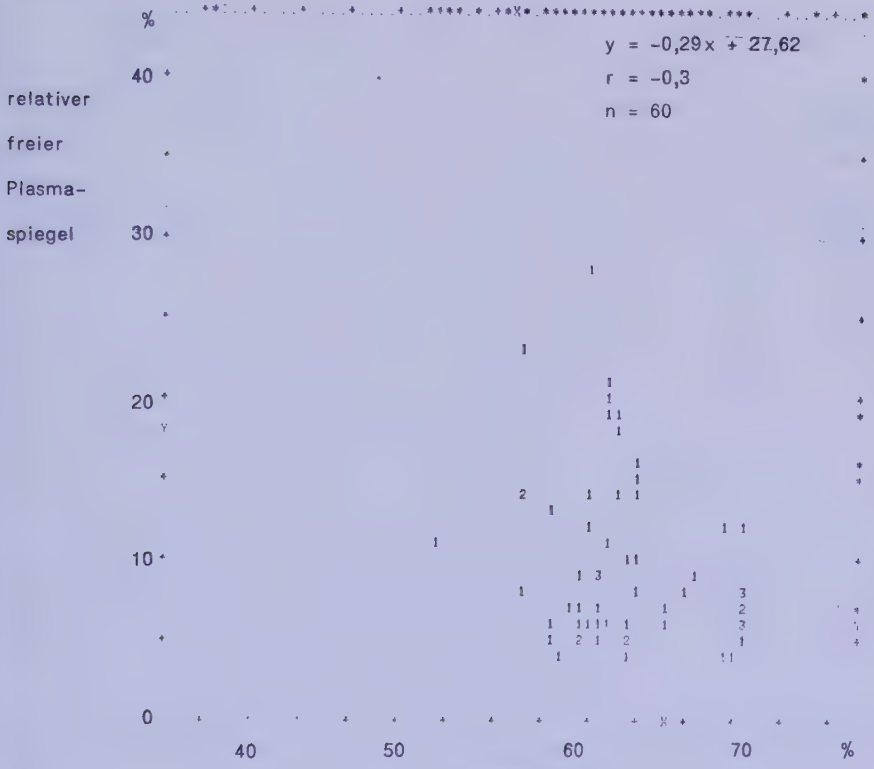
Der relative freie Plasmaspiegel von Carbamazepin in Abhängigkeit von der Hämoglobinkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Carbamazepin mit der Hämoglobinkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Hämoglobinkonzentration auf die Höhe der Bindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 5

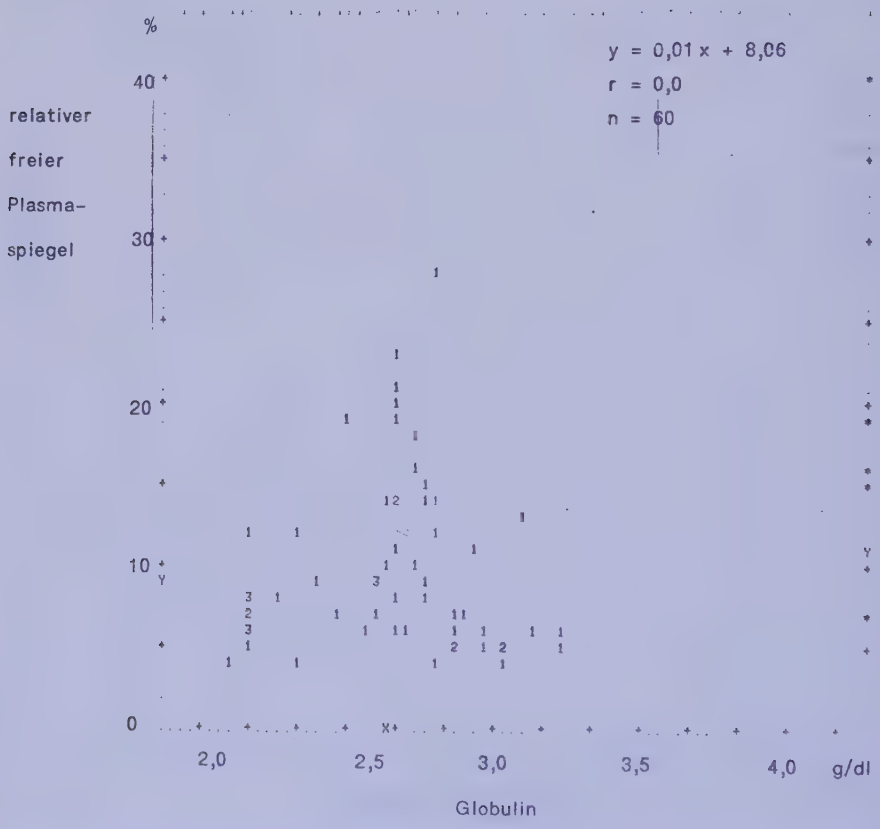
Der relative freie Plasmaspiegel von Phenytoin in Abhängigkeit von der Albuminkonzentration



Bei der Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Phenytoin mit der Albuminkonzentration läßt sich in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Albuminkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 6

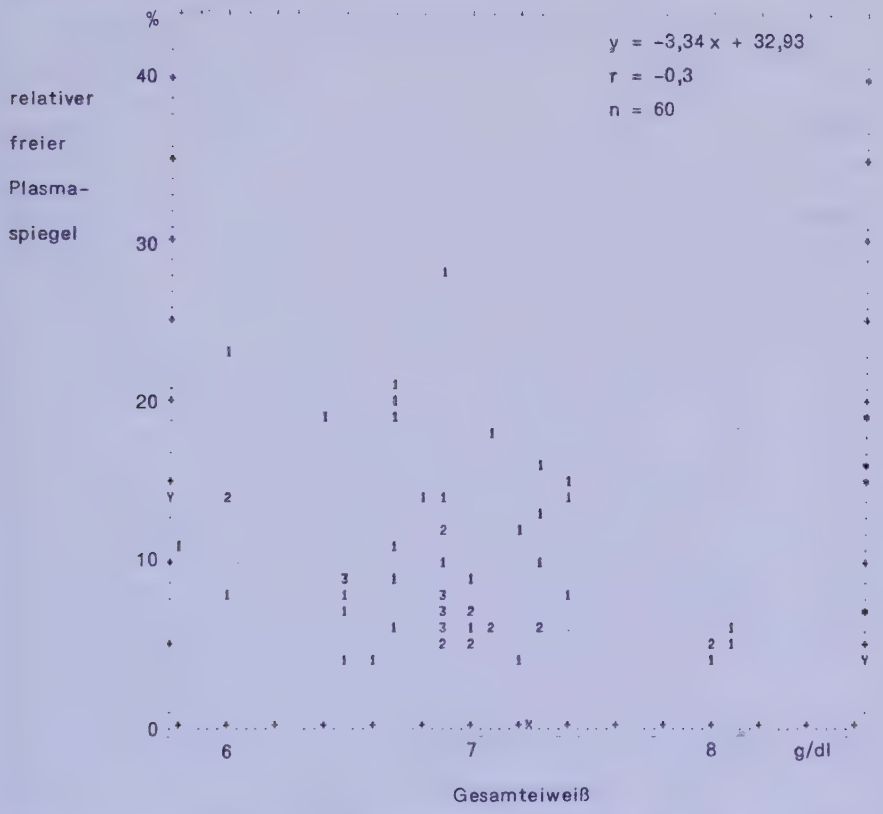
Der relative freie Plasmaspiegel von Phenytoin in Abhängigkeit von der Globulinkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Phenytoin mit der Globulinkonzentration im Plasma läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Globulinkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 7

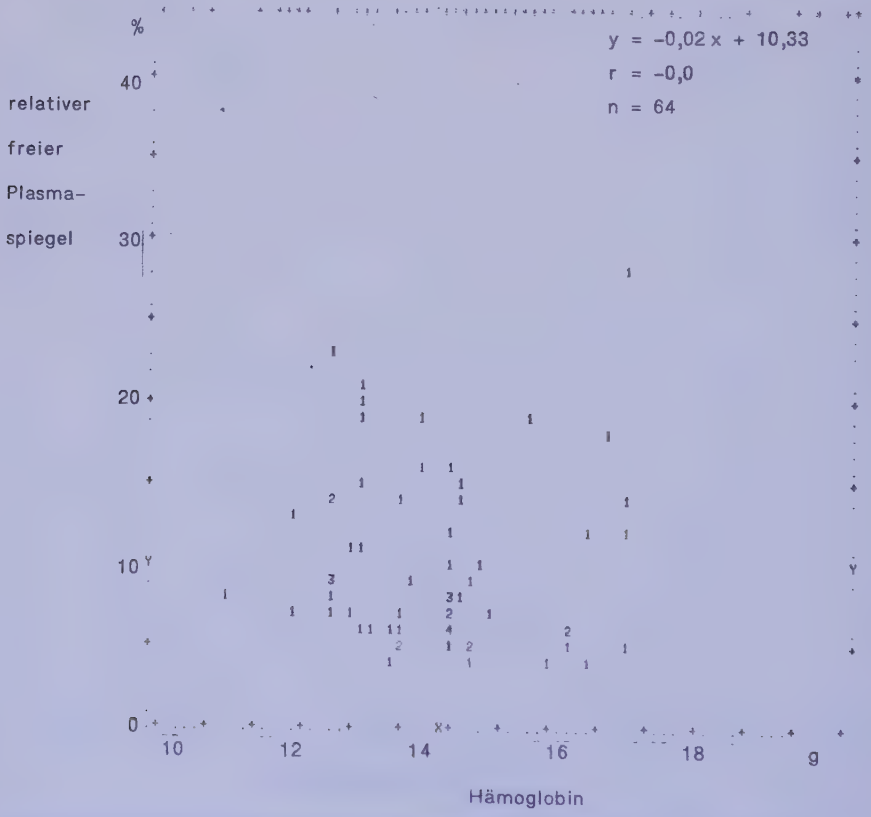
Der relative freie Plasmaspiegel von Phenytoin in Abhängigkeit von der Gesamteiweißkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Phenytoin mit der Gesamteiweißkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Gesamteiweißkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 8

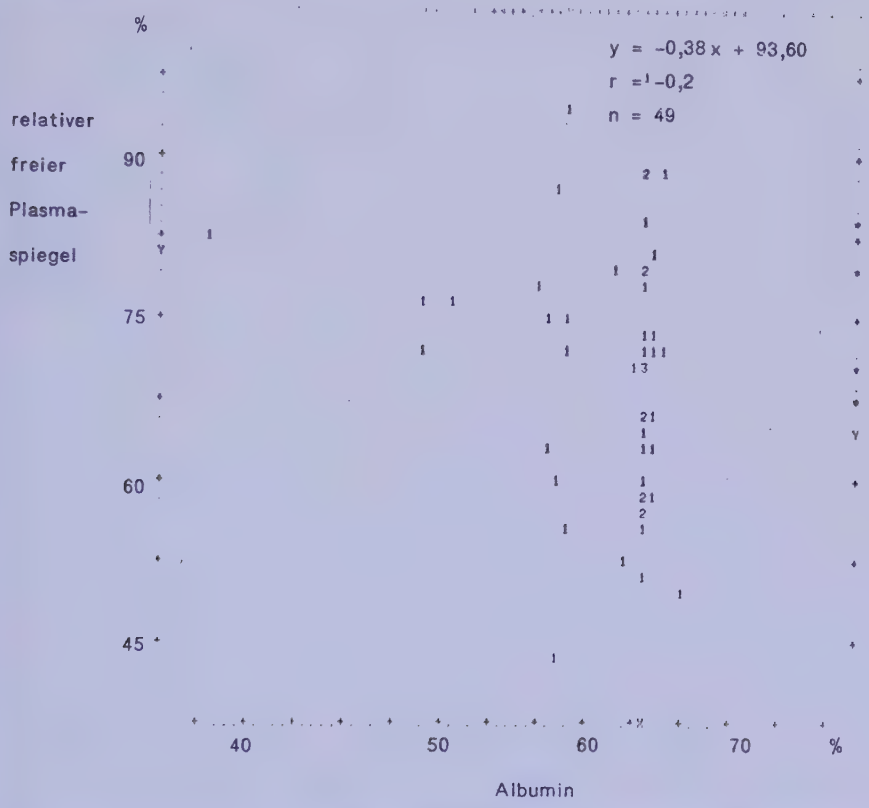
Der relative freie Plasmaspiegel von Phenytoin in Abhängigkeit von der Hämoglobinkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Phenytoin mit der Hämoglobinkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Hämoglobinkonzentration auf die Höhe der Bindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 9

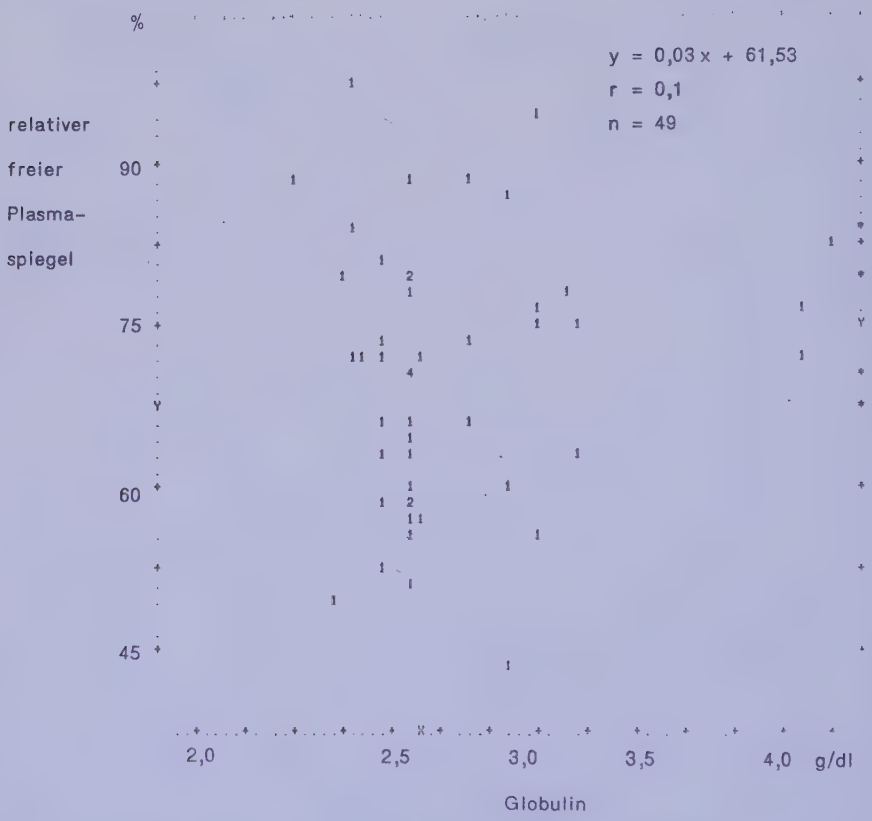
Der relative freie Plasmaspiegel von Primidon in Abhängigkeit von der Albuminkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Primidon mit der Albuminkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Albuminkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 10

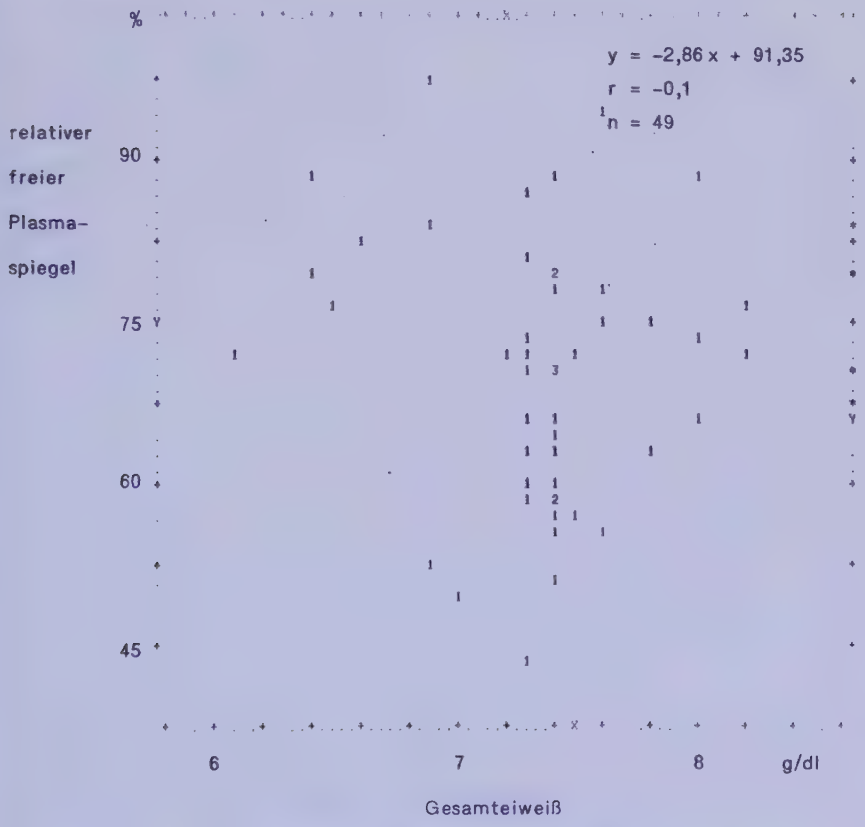
Der relative freie Plasmaspiegel von Primidon in Abhängigkeit von der Globulinkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Primidon mit der Globulinkonzentration im Plasma läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Globulinkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 11

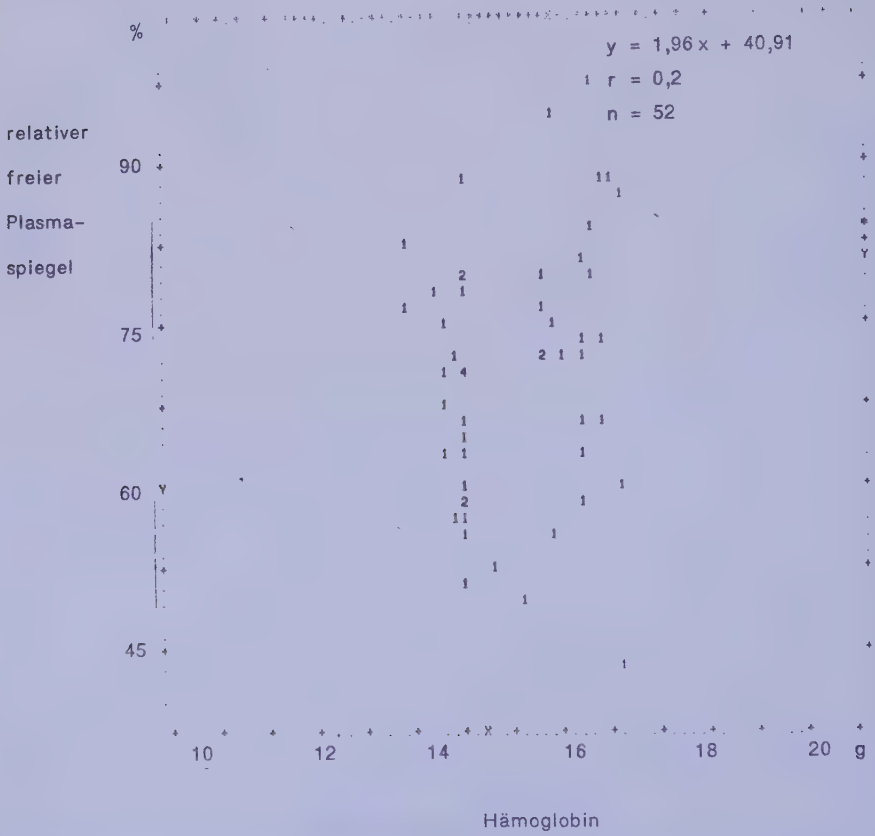
Der relative freie Plasmaspiegel von Primidon in Abhängigkeit von der Gesamteiweißkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Primidon mit der Gesamteiweißkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Gesamteiweißkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 12

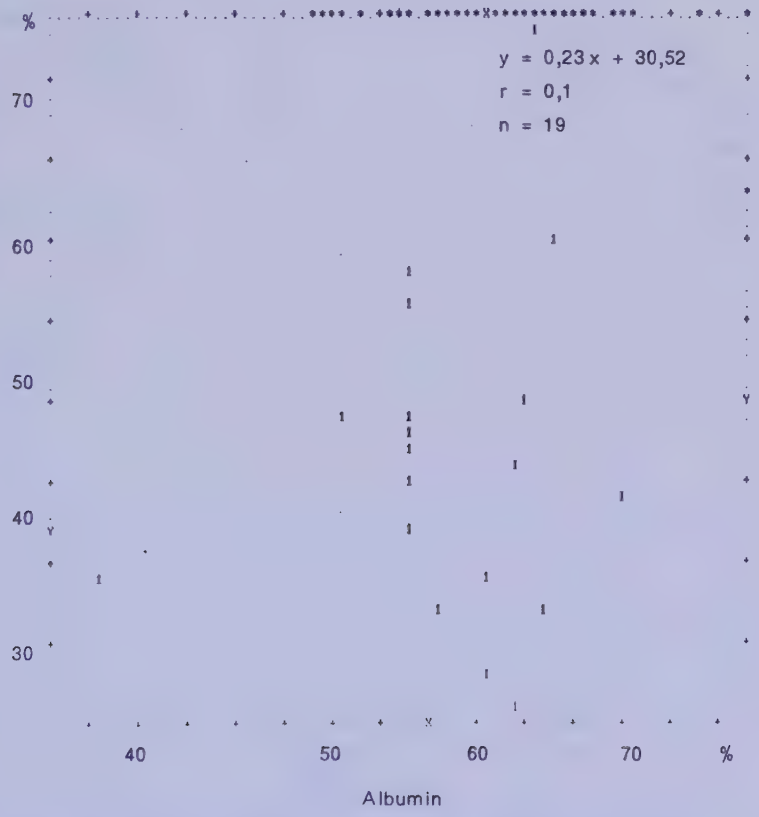
Der relative freie Plasmaspiegel von Primidon in Abhängigkeit von der Hämoglobinkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Primidon mit der Hämoglobinkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Hämoglobinkonzentration auf die Höhe der Bindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 13

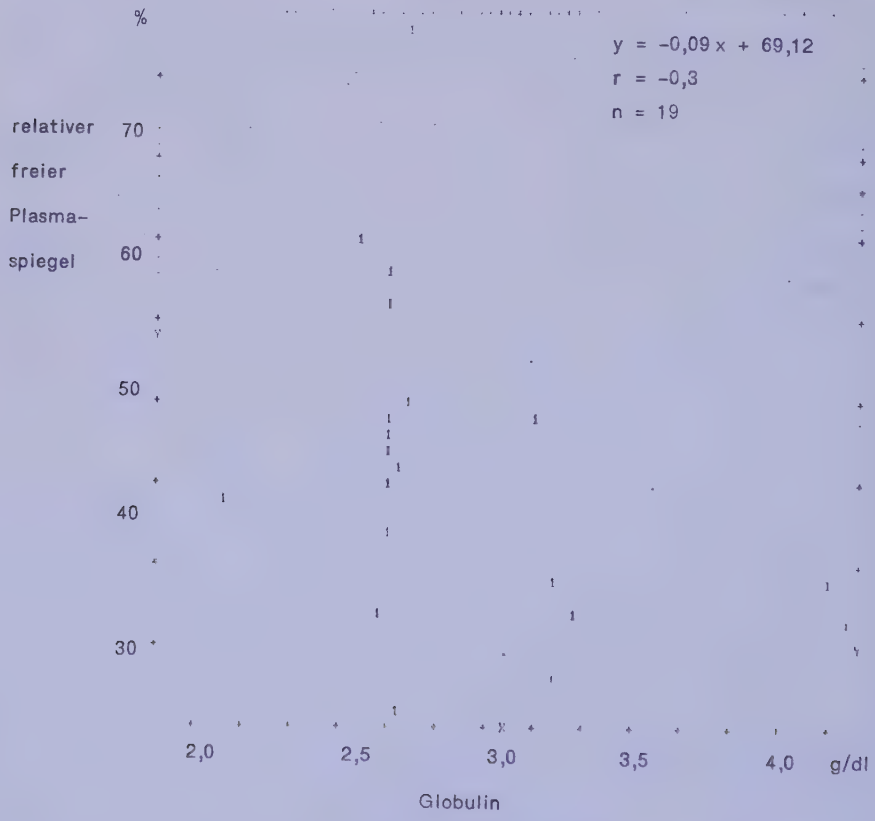
Der relative freie Plasmaspiegel von Phenobarbital in Abhängigkeit von der Albuminkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Phenobarbital mit der Albuminkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Albuminkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 14

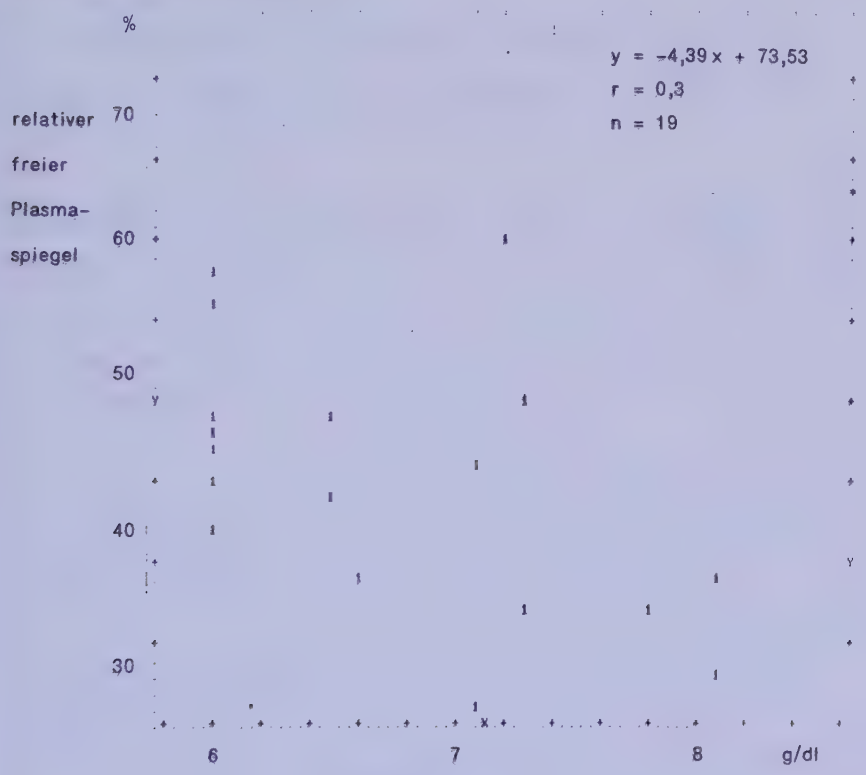
Der relative freie Plasmaspiegel von Phenobarbital in Abhängigkeit von der Globulinkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Phenobarbital mit der Globulinkonzentration im Plasma läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Globulinkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 15

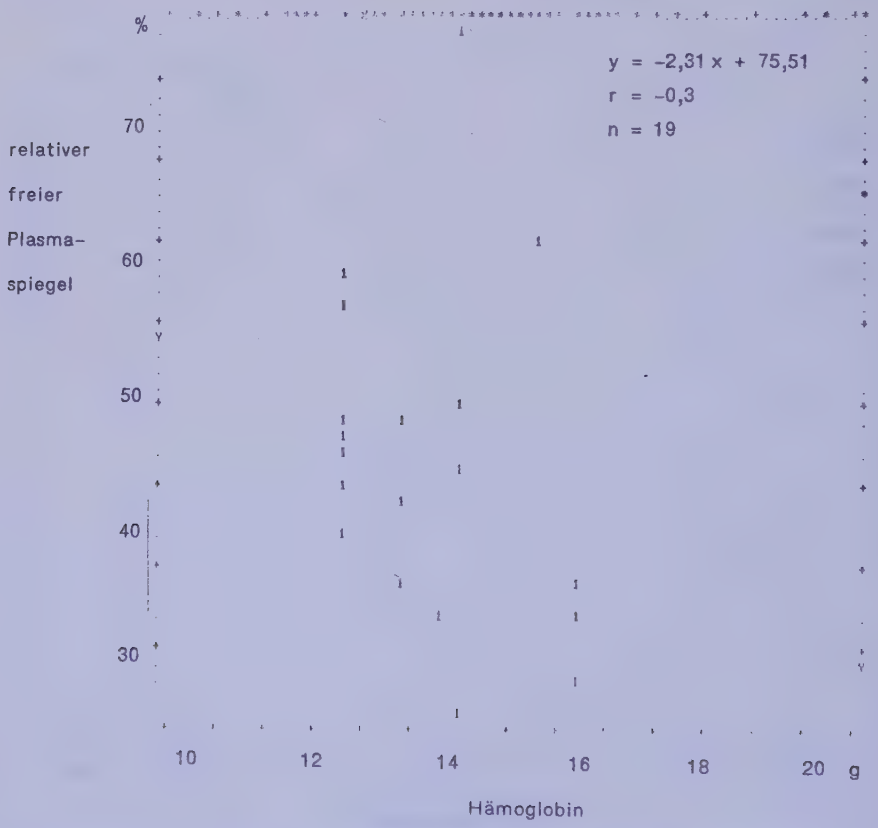
Der relative freie Plasmaspiegel von Phenobarbital in Abhängigkeit von der Gesamteiweißkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Phenobarbital mit der Gesamteiweißkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Gesamteiweißkonzentration auf die Höhe der Eiweißbindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

Abbildung 16

Der relative freie Plasmaspiegel von Phenobarbital in Abhängigkeit von der Hämoglobinkonzentration



Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Phenobarbital mit der Hämoglobinkonzentration läßt in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Beziehung zwischen diesen Parametern erkennen. Ein Rückschluß von der Hämoglobinkonzentration auf die Höhe der Bindung des Antikonvulsivums ist danach nicht möglich.

4.3.4. Abhängigkeit der freien Spiegel von der Plasmakonzentration der Antikonvulsiva

Durch die Darstellung des absoluten beziehungsweise relativen freien Plasmaspiegels in Abhängigkeit von der Gesamtkonzentration (Abbildung 17 bis 24) sollten Aufschlüsse über eine Abhängigkeit der Proteinbindung von der Gesamtkonzentration des jeweiligen Antikonvulsivums gewonnen werden.

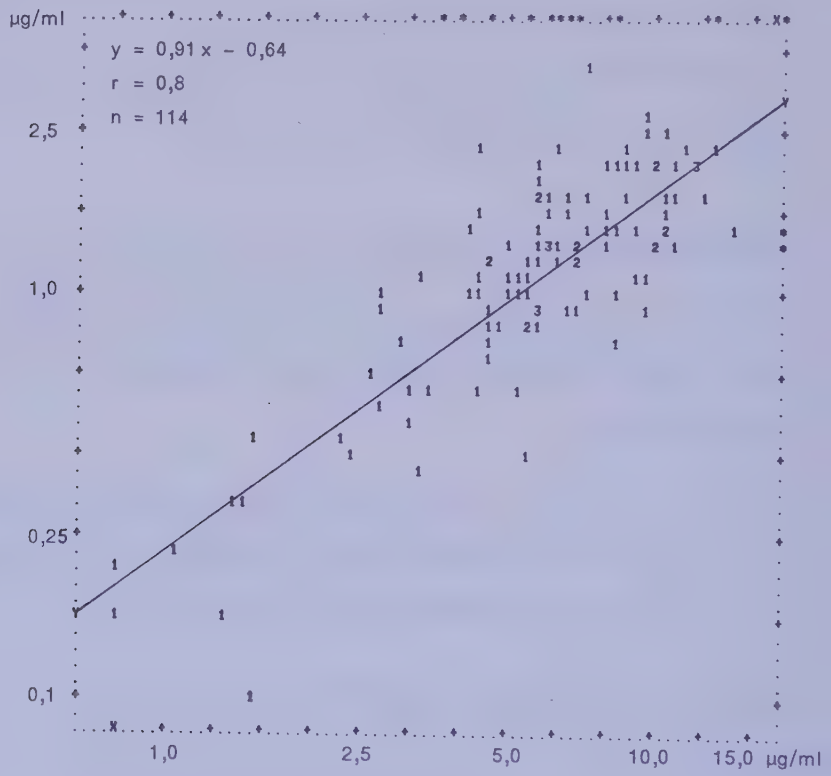
Die Korrelationen der absoluten freien Spiegel zur Plasmagesamtkonzentration (Abbildung 17 bis 20) lassen für alle untersuchten Medikamente eine lineare Abhängigkeit der beiden Größen vermuten. Wie die in Abbildung 21, 23 und 24 dargestellten Meßwerte zeigen, trifft diese Annahme für Carbamazepin, Primidon und Phenobarbital zu.

Im Gegensatz dazu zeigt sich für Phenytoin überraschenderweise eine nichtlineare Beziehung, das heißt die Proteinbindung nimmt bei steigenden Gesamtkonzentrationen zu, die relativen freien Spiegel sinken also ab (Abbildung 22).

Beachtenswert ist die erhebliche **inter**individuelle Streuung der Werte (vergleiche 4.3.5.)

Abbildung 17

Der freie Plasmaspiegel von Carbamazepin in Abhängigkeit von der Plasmakonzentration

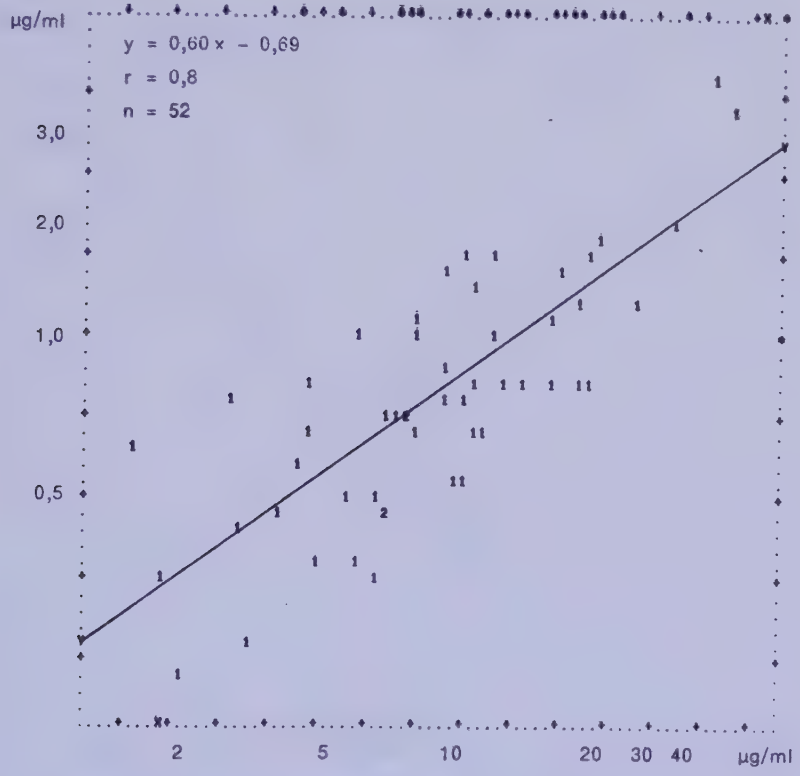


Ordinate: freier Plasmaspiegel (log.)
Abszisse: Gesamtkonzentration (log.)

Die Abbildung zeigt eine gute Korrelation zwischen dem freien Plasmaspiegel und der Gesamtkonzentration. Die Zahlen in der Abbildung geben die Anzahl der Werte mit der jeweiligen Konzentration an.

Abbildung 18

Der freie Plasmaspiegel von Phenytoin in Abhängigkeit von der Plasmakonzentration

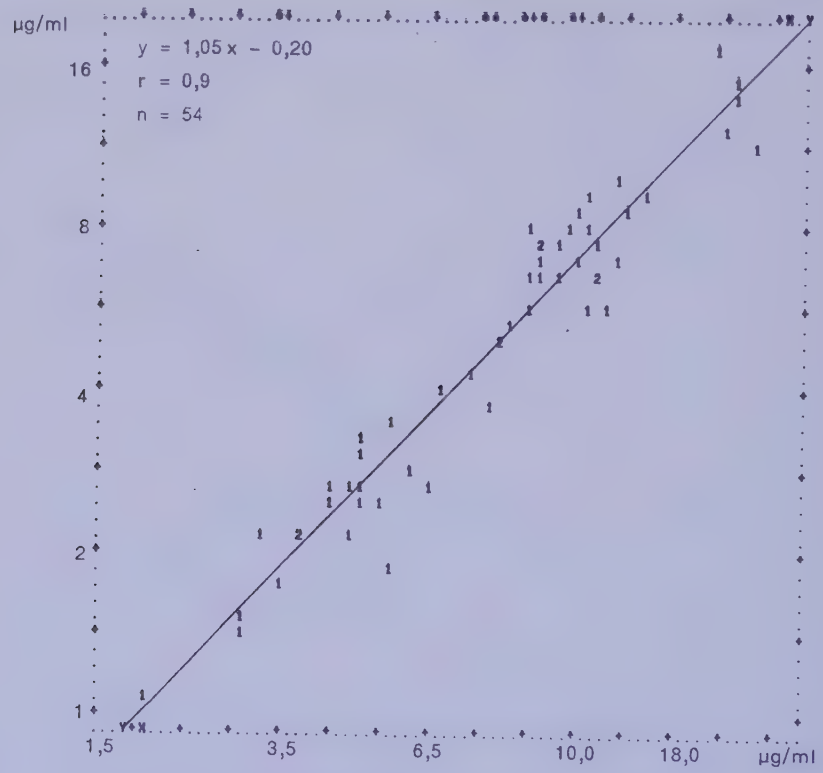


Ordinate: freier Plasmaspiegel (log.)
Abszisse: Gesamtkonzentration (log.)

Auch hier besteht eine gute lineare Korrelation zwischen den log-transformierten Werten der freien Plasmaspiegel und den Gesamtkonzentrationen.

Abbildung 19

Der freie Plasmaspiegel von Primidon in Abhängigkeit von der Plasmakonzentration

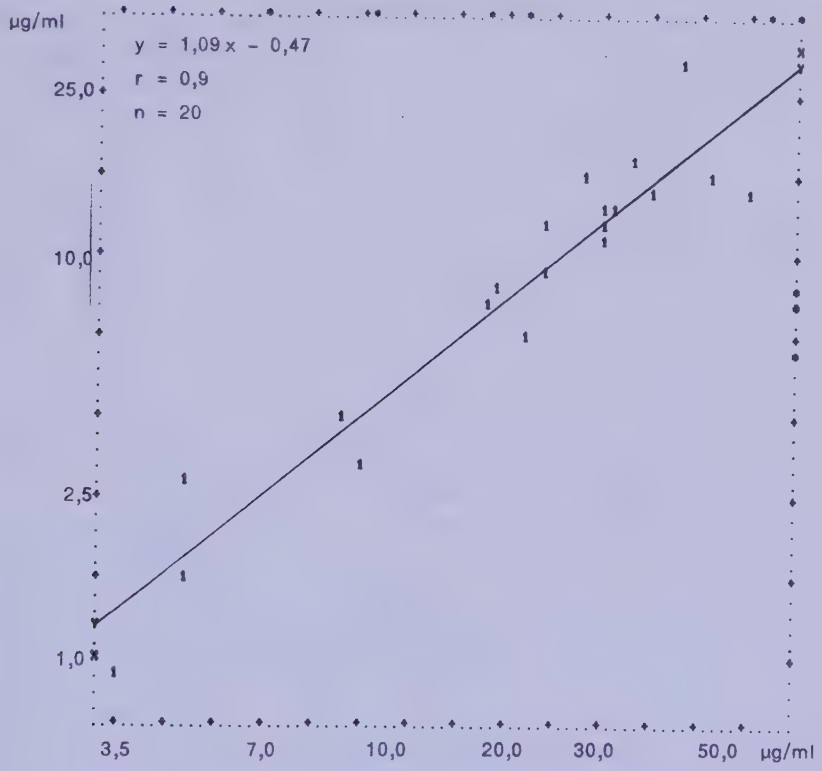


Ordinate: freier Plasmaspiegel (log.)
Abszisse: Gesamtkonzentration (log.)

Es besteht eine gute lineare Beziehung zwischen dem freien Plasmaspiegel und der Gesamtkonzentration.

Abbildung 20

Der freie Plasmaspiegel von Phenobarbital in Abhängigkeit von der Plasmakonzentration

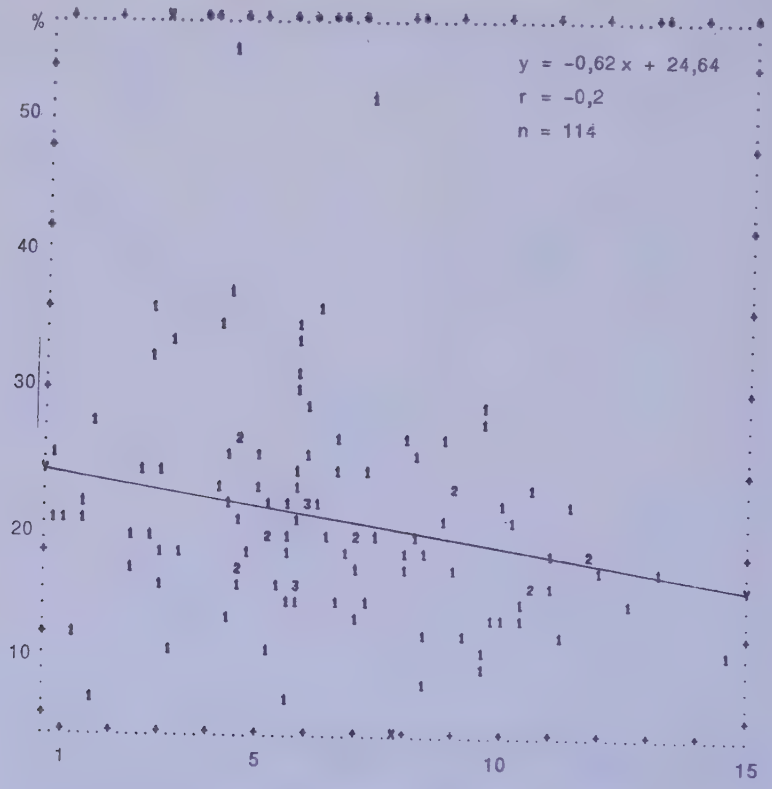


Ordinate: freier Plasmaspiegel (log.)
Abszisse: Gesamtkonzentration (log.)

Auch bei Phenobarbital korrelieren freier Plasmaspiegel und Gesamtkonzentration gut.

Abbildung 21

Der relative freie Plasmaspiegel von Carbamazepin in Abhängigkeit von der Plasmakonzentration



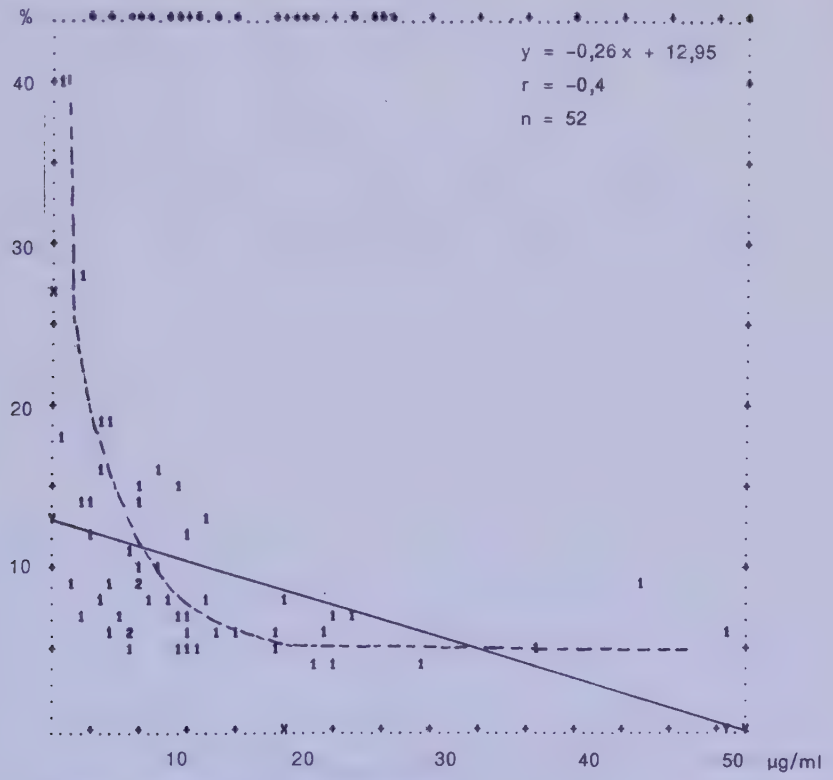
Ordinate: relativer freier Plasmaspiegel
Abszisse: Gesamtkonzentration

Auch bei der Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels mit der Gesamtkonzentration bestätigt sich die in Abbildung 17 festgestellte Linearität.

Die größere Streuung als in Abb. 17 und der niedrigere Korrelationskoeffizient sind aufgrund der Auftragung relativer Abweichungen zu erklären.

Abbildung 22

Der relative freie Plasmaspiegel von Phenytoin in Abhängigkeit von der Plasmakonzentration



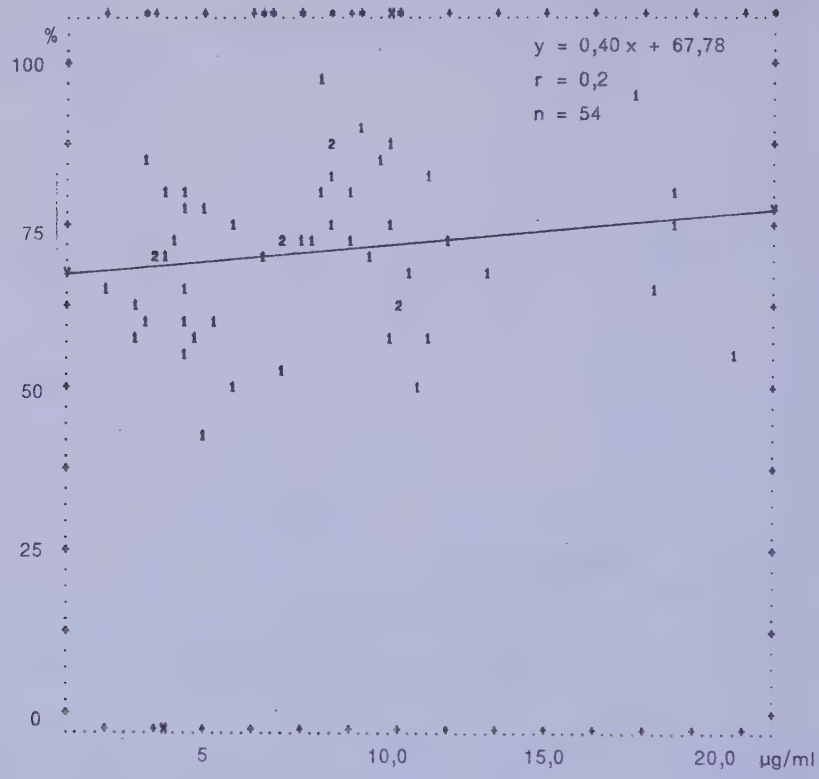
Ordinate: relativer freier Plasmaspiegel

Abszisse: Gesamtkonzentration

Die rechnerisch ermittelte Korrelations-Funktion (linear für die ausgewerteten Daten) entspricht im unteren Konzentrationsbereich nicht der gemessenen Wertescharr (vergleiche Abbildung 18). Somit ergeben sich für Phenytoin überraschenderweise andere Verhältnisse im unteren Konzentrationsbereich als für hohe Gesamtkonzentrationen.

Abbildung 23

Der relative freie Plasmaspiegel von Primidon in Abhängigkeit von der Plasmakonzentration



Ordinate: relativer freier Plasmaspiegel

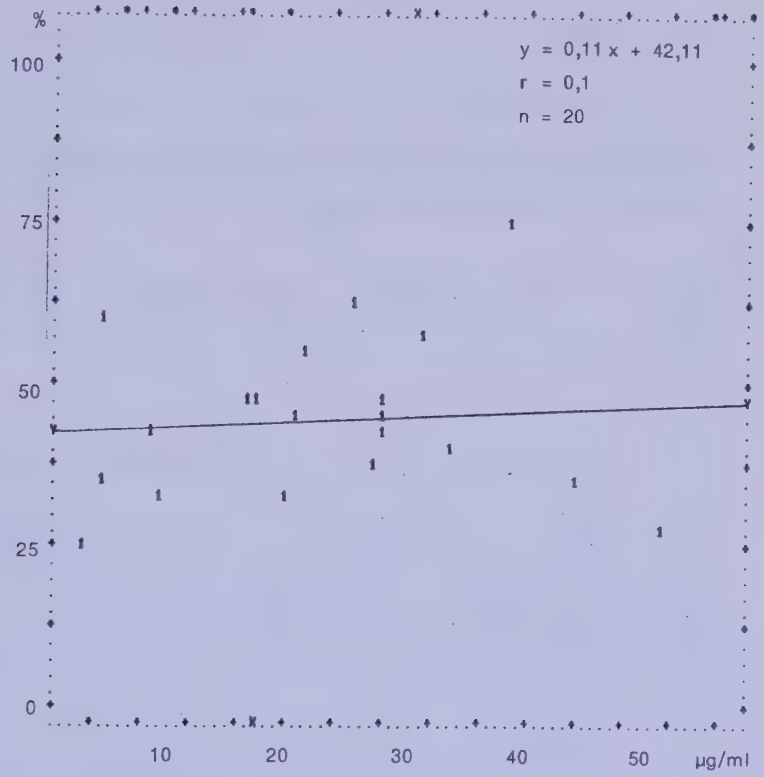
Abszisse: Gesamtkonzentration

Die Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels von Primidon mit der Gesamtkonzentration bestätigt die in Abbildung 19 gefundene Linearität.

Die größere Streuung als in Abb. 19 und der niedrigere Korrelationskoeffizient sind aufgrund der Auftragung relativer Abweichungen zu erklären.

Abbildung 24

Der relative freie Plasmaspiegel von Phenobarbital in Abhängigkeit von der Plasmakonzentration



Ordinate: relativer freier Plasmaspiegel

Abszisse: Gesamtkonzentration

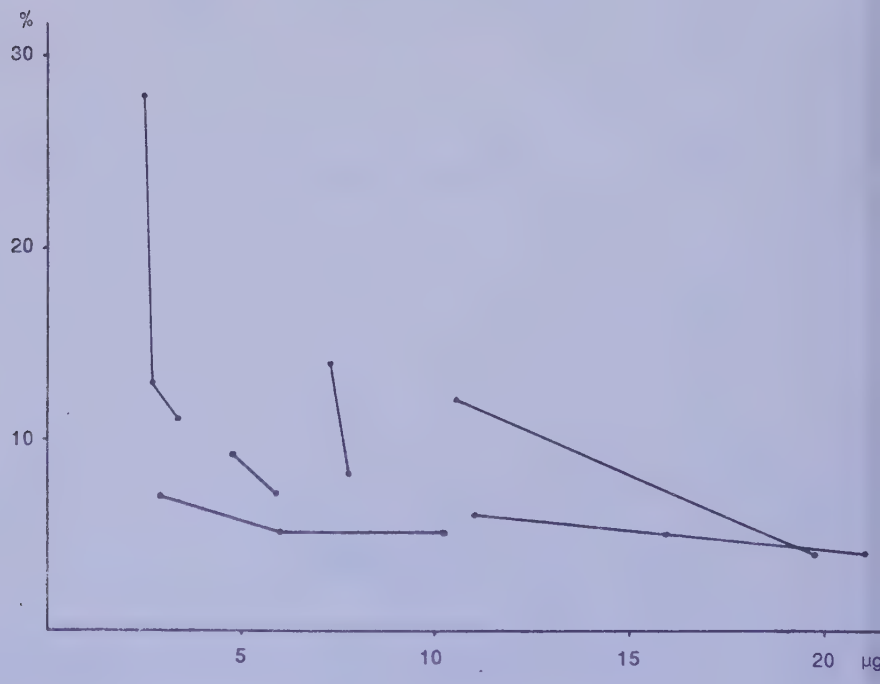
Auch für Phenobarbital bestätigt sich die in Abbildung 20 gefundene Linearität.

Die größere Streuung als in Abb. 20 und der niedrigere Korrelationskoeffizient sind aufgrund der Auftragung relativer Abweichungen zu erklären.

Auch bei Bestimmung mehrerer aufeinanderfolgender Phenytoin - Plasmakonzentrationen einzelner Patienten und Darstellung in Abhängigkeit von der Plasmagesamtkonzentration bestätigt sich die Nichtlinearität dieser Beziehung (vergleiche Abbildung 18, 22 und 27).

Abbildung 25

Aufeinanderfolgend entnommene Plasmaspiegel einzelner Patienten in Abhängigkeit von der Plasmagesamtkonzentration



Ordinate: relativer freier Plasmaspiegel
Abszisse: Gesamtkonzentration

Jede Kurve stellt einen einzelnen Patienten dar.

4.3.5. Interindividuelle Unterschiede des relativen freien Plasmaspiegels

Um Aussagen über **inter**individuelle Unterschiede des relativen freien Plasmaspiegels machen zu können, wurde zunächst für jeden Patienten der jeweilige Mittelwert errechnet und daraus die Streuung zwischen den Patienten ermittelt, die das identische Antikonvulsivum erhielten. Die so gefundenen Minimal- und Maximalwerte zeigt Tabelle 10.

Bei Primidon und Phenobarbital reicht die **inter**individuelle Spanne bis zum Doppelten des niedrigsten Wertes, bei Carbamazepin und Phenytoin bis zum Fünffachen

Tabelle 10

Interindividuelle Schwankungen des relativen freien Plasmaspiegels

Medikament	relativer freier Plasmaspiegel (%)		Unterschiede des relativen freien Plasmaspiegels als x-faches des Minimalwertes
	Minimum	Maximum	
Carbamazepin	7	34	4,8
Phenytoin	4	18	4,5
Primidon	49	91	1,9
Phenobarbital	32	60	1,9

4.3.6. Intraindividuelle Schwankungen des relativen freien Plasmaspiegels

Hier sollte untersucht werden, welche Konstanz die Proteinbindung **intra**individuell aufweist. Dazu wurde die größte Schwankung des relativen freien Plasmaspiegels für jeden Patienten errechnet und anschließend der Mittelwert über alle Patienten für das jeweilige Antikonvulsivum gebildet. Einen Überblick gibt Tabelle 11.

Bei Carbamazepin und Phenytoin schwankt der relative freie Plasmaspiegel innerhalb eines Patienten durchschnittlich etwa um das Zweifache. Weitaus höhere Schwankungen sind jedoch möglich (siehe "Extremwerte").

Bei Primidon und Phenobarbital zeigt der relative freie Plasmaspiegel mit durchschnittlichen Schwankungen um das 1,3- beziehungsweise 1,5-fache eine größere Konstanz.

Tabelle 11
Intraindividuelle Schwankungen des relativen freien Plasmaspiegels

Medikament	Schwankungen des relativen freien Plasmaspiegels als x-faches des jeweiligen Minimalwertes		
	Durchschnittliche Schwankung	Extremwerte	
		Minimum	Maximum
Carbamazepin	2,1	1,0	8,0
Phenytoin	2,2	1,3	3,5
Primidon	1,3	1,1	1,7
Phenobarbital	1,5	1,3	1,7

4.4. Ergebnisse der Analysen der Speichelspiegel der Antikonvulsiva

4.4.1. Vergleich der Medikamentenspiegel in Parotis- und Gesamtspeichel mit dem freien Plasmaspiegel

4.4.1.1. Bestimmung der Medikamentenkonzentration im Gesamtspeichel

Nach Aufbereitung des Gesamtspeichels - Zentrifugieren und Abpipettieren des klaren Überstandes - wurden die Proben analog den Plasmaproben bestimmt. Die so ermittelten Konzentrationen wurden wie der freie Plasmaspiegel in Relation zur Plasamgesamtkonzentration gesetzt und anschließend der Mittelwert für jedes Antikonvulsivum gebildet. So war ein Vergleich zwischen Speichel- und freien Plasmaspiegeln möglich. Die Ergebnisse gibt Tabelle 12 wieder.

4.4.1.2. Bestimmung der Medikamentenkonzentration im Parotisspeichel

Der Parotisspeichel konnte direkt zur Analyse verwendet werden, da er keine wesentlichen Verunreinigungen enthielt. Die Proben wurden wie die Plasmaproben mit dem EMIT analysiert. Auch hier wurde die Speichelkonzentration in Beziehung zur Plasmagesamtkonzentration gesetzt und anschließend der Mittelwert aus allen Proben für das jeweilige Antikonvulsivum gebildet. Die Ergebnisse gehen aus Tabelle 12 hervor.

4.4.1.3. Vergleich der Konzentrationen im Speichel mit den freien Plasmaspiegeln

Um die Speichelspiegel mit den freien Plasmaspiegeln vergleichen zu können, wurden alle ermittelten Konzentrationen in Beziehung zur Plasmagesamtkonzentration gesetzt und der jeweilige Mittelwert errechnet. Tabelle 12 zeigt die Ergebnisse. Die Berechnung des relativen freien Plasmaspiegels bezog sich hierbei ausschließlich auf die Patienten, bei denen gleichzeitig Speichelwerte vorlagen.

In fast allen Fällen lag der relative Anteil im Speichel geringgradig über dem relativen Plasmaspiegel. Nur zweimal (Phenytoin Gesamtspeichel (S.ges.), und Phenobarbital Parotisspeichel (S.par.)) konnte im Speichel ein niedrigerer relativer Anteil festgestellt werden. Er lag im Parotisspeichel jeweils höher als im Gesamtspeichel - wenn auch nur geringfügig.

Tabelle 12

Relative Speichelspiegel im Vergleich mit dem relativen freien Plasmaspiegel

Medikament		relativer Spiegel bezogen auf den Gesamtspiegel im Plasma (%)	S.D.	r	n	Änderung des Spiegels (%)	Änderung von r (%)
Carbamazepin	P.frei	22,5	8,4	0,8	34		
	S.par	30,4*	6,0	0,9*	21	+ 35,3	+ 22,1
	S.ges	28,4*	9,5	0,9*	34	+ 26,4	+ 16,9
Phenytoin	P.frei	12,5	8,8	0,8	17		
	S.par	11,7	4,8	0,9*	11		+ 12,5
	S.ges	9,5*	3,8	0,9*	16	- 21,2	+ 16,3
Primidon	P.frei	70,3	11,6	0,9	12		
	S.par	112,9*	60,7	0,8*	9	+ 60,7	- 18,6
	S.ges	103,8*	37,9	0,9*	11	+ 47,8	- 10,3
Phenobarbital	P.frei	56,9	22,6	0,9	3		
	S.par	39,8*	8,0	0,9	3	- 30,1	
	S.ges				2		

* = Veränderung gegenüber dem relativen freien Plasmaspiegel.
Es wurden nur Veränderungen über $\pm$ 10 % - also außerhalb des Methodenfehlers - angegeben

S.D. = Standardabweichung des Mittelwertes

r = Korrelationskoeffizient (BMDP, Statistical Software, Dixon 1981)

P.frei = freier Plasmaspiegel

S.par = Parotisspeichelspiegel

S.ges = Gesamtspeichelspiegel

Die Korrelationen und die Probenanzahl wurden in einer getrennten Tabelle (Tabelle 13) aufgeführt.

Tabelle 13

Korrelationskoeffizienten und Probenanzahl der Speichelspiegel in Relation zum freien Plasmaspiegel und in Relation untereinander

Medikament	S.par / P.frei r	n	S.ges / P.frei r	n	S.par / S.ges r	n
Carbamazepin	0,9	22	0,8	35	0,9	24
Phenytoin	0,9	12	0,9	16	0,9	11
Primidon	0,7	9	0,8	11	0,9	18
Phenobarbital	0,9	4	0,9	5	0,9	4

P.frei = freier Plasmaspiegel

S.par = Parotisspeichelspiegel

S.ges = Gesamtspeichelspiegel

r = Korrelationskoeffizient (BMDP, Statistical Software, Dixon 1981)

n = Anzahl der Proben

Tabelle 13 zeigt, daß zwischen den Speichelspiegeln und dem freien Plasmaspiegel eine enge Korrelation besteht.

4.4.2. Abhängigkeit der relativen Speichelspiegel von der Gesamtplasmakonzentration der Antikonvulsiva

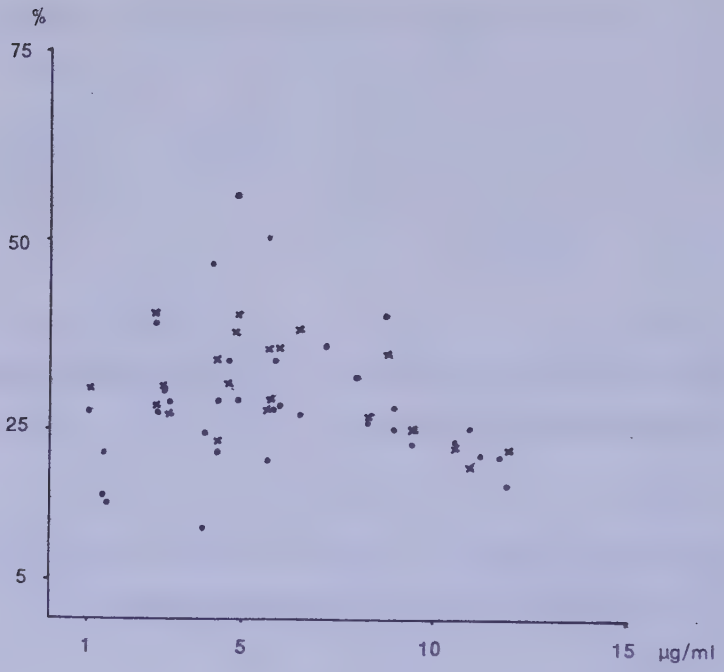
Durch die Darstellung der relativen Speichelspiegel in Abhängigkeit von der Gesamtplasmakonzentration (Abbildung 26 bis 29) sollten Aufschlüsse über eine Abhängigkeit der Proteinbindung von der Gesamtkonzentration des jeweiligen Antikonvulsivums gewonnen werden. Außerdem sollte festgestellt werden, ob die unter 4.3.4. gewonnenen Ergebnisse auch für den Speichel als körpereigenes Ultrafiltrat gelten.

Aus Abbildung 26, 28 und 29 ergibt sich, daß die Proteinbindung bei unterschiedlicher Plasmagesamtkonzentration gleich bleibt, sich also die relativen Speichelspiegel nicht verändern.

Fur Phenytoin zeigt sich auch hier (Abbildung 27) eine nichtlineare Beziehung. Die Proteinbindung nimmt bei steigender Gesamtkonzentration zu, die relativen Speichelspiegel sinken (vergleiche Abbildung 18 und 22).

Abbildung 26

Der relative Speichelspiegel von Carbamazepin in Abhängigkeit von der Plasmagesamtkonzentration



✖ = Parotisspeichelspiegel

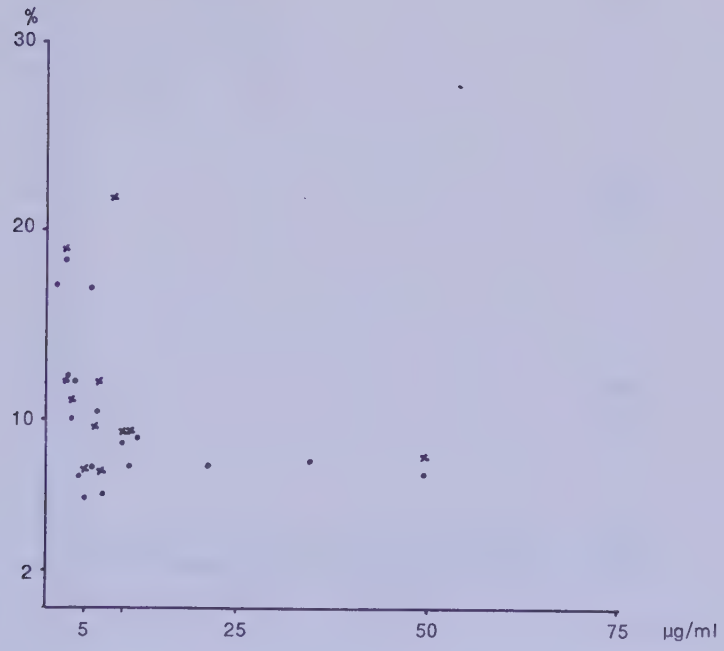
• = Gesamtspeichelspiegel

Ordinate: relativer Speichelspiegel

Abszisse: Gesamtkonzentration

Abbildung 27

Der relative Speichelspiegel von Phenytoin in Abhängigkeit von der Plasmagesamtkonzentration



✖ = Parotisspeichelspiegel

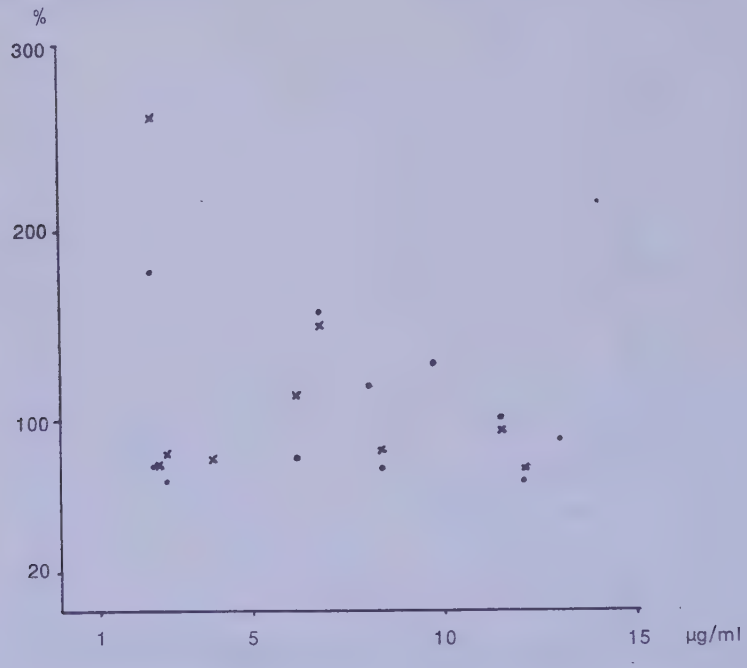
• = Gesamtspeichelspiegel

Ordinate: relativer Speichelspiegel

Abszisse: Gesamtkonzentration

Abbildung 28

Der relative Speichelspiegel von Primidon in Abhängigkeit von der Plasmagesamtkonzentration



× = Parotisspeichelspiegel

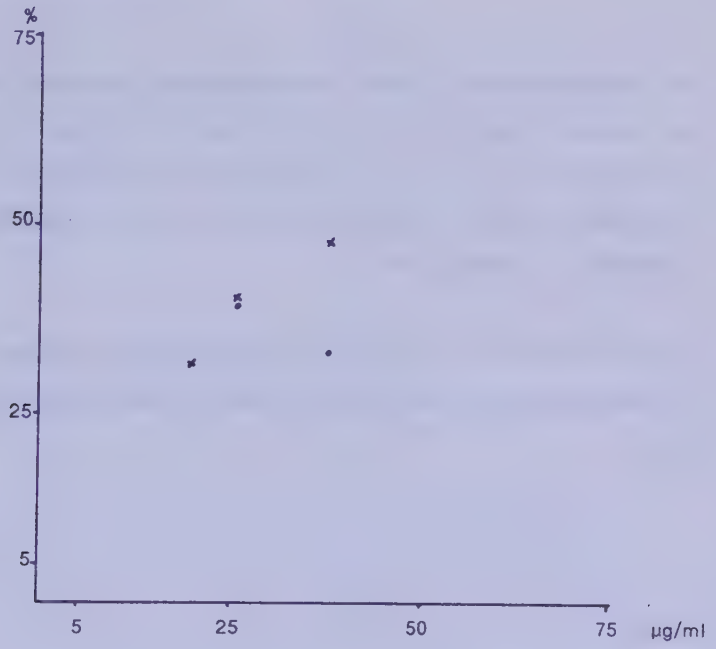
• = Gesamtspeichelspiegel

Ordinate: relative Speichelkonzentration

Abszisse: Gesamtkonzentration

Abbildung 29

Der relative Speichelspiegel von Phenobarbital in Abhängigkeit von der Plasmagesamtkonzentration



✕ = Parotisspeichelspiegel

• = Gesamtspeichelspiegel

Ordinate: relativer Speichelspiegel

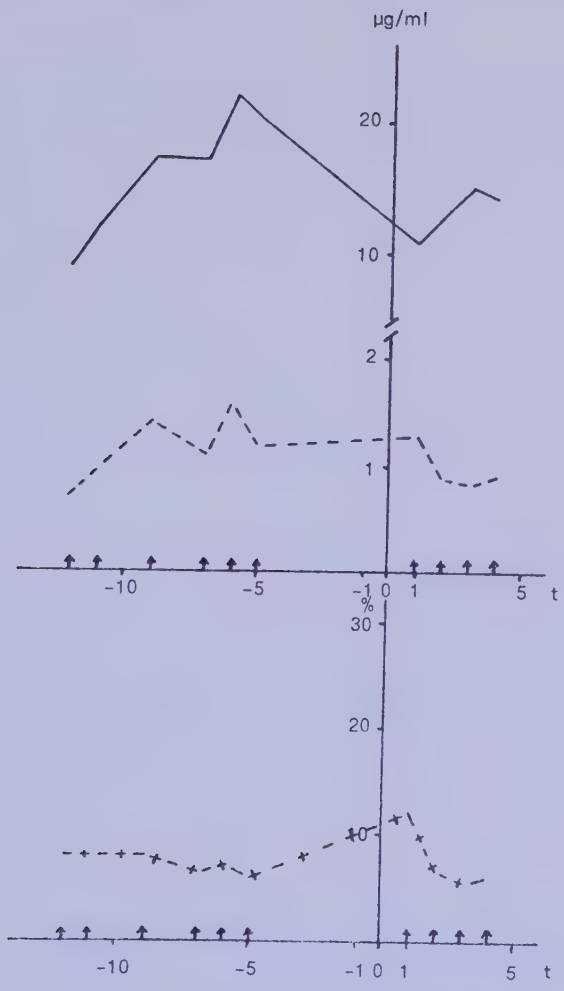
Abszisse: Gesamtkonzentration

4.4.3. Einzelbeobachtungen verschiedener Patienten über einen längeren Zeitraum

Die Abbildungen 30 bis 37 stellen die Ergebnisse von Einzelstudien dar, die an 7 Patienten (Abbildung 36 und 37 = ein Patient) vorgenommen wurden. Ziel dieser Untersuchung war eine wiederholte Gegenüberstellung der jeweiligen Konzentrationen in Plasma und Speichel, um die große intraindividuelle Variabilität zu veranschaulichen.

Die Gesamtspeichelwerte liegen bis auf wenige Ausnahmen niedriger als die Parotisspeichelwerte, zu denen sie aber stets eine enge Beziehung aufweisen.

Abbildung 30



—— = Plasmagesamtkonzentration

- - - = freier Plasmaspiegel

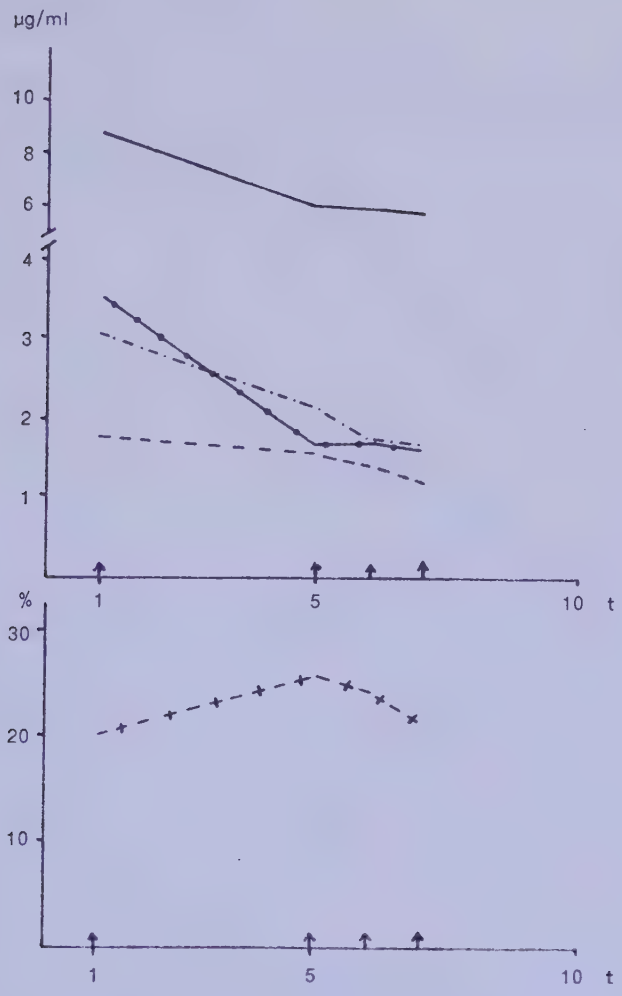
+ - - + = relativer freier Plasmaspiegel

↑ = Spiegelbestimmung

Der Patient erhielt Phenytoin. Am Schnittpunkt der Kurve mit der y-Achse wurde Valproinat als zweites Medikament gegeben.

Bei deutlich fallendem Gesamtspiegel ist ein Ansteigen des relativen feien Plasmaspiegels auf fast das Doppelte zu beobachten.

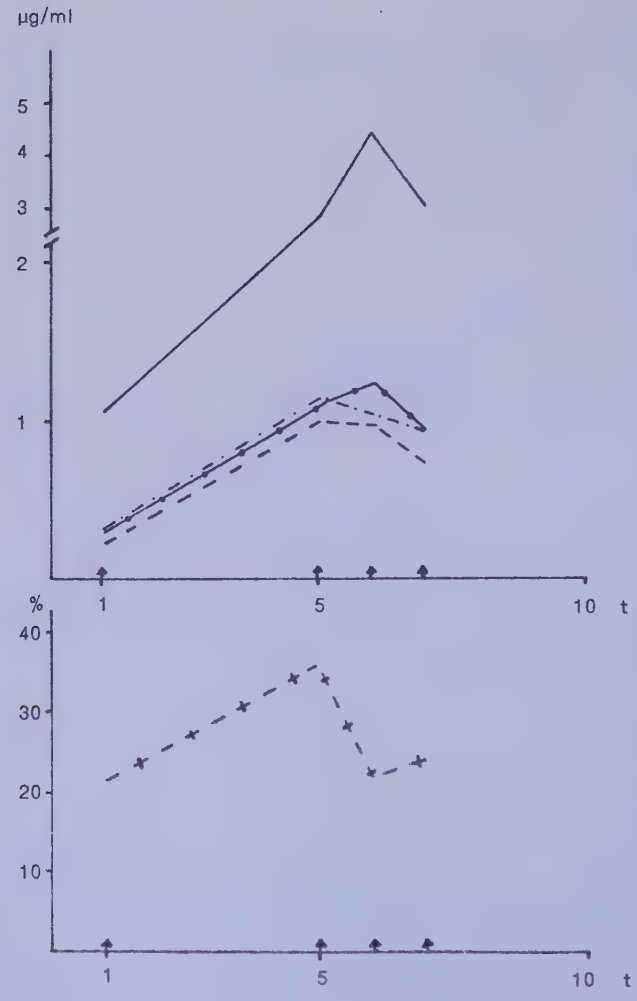
Abbildung 31



= Plasmagesamtkonzentration
= freier Plasmaspiegel
= relativer freier Plasmaspiegel
= Gesamtspeichelspiegel
= Parotisspeichelspiegel
= Spiegelbestimmung

Der Patient erhielt Carbamazepin. Freier Plasmaspiegel und Speichelspiegel differieren.

Abbildung 32

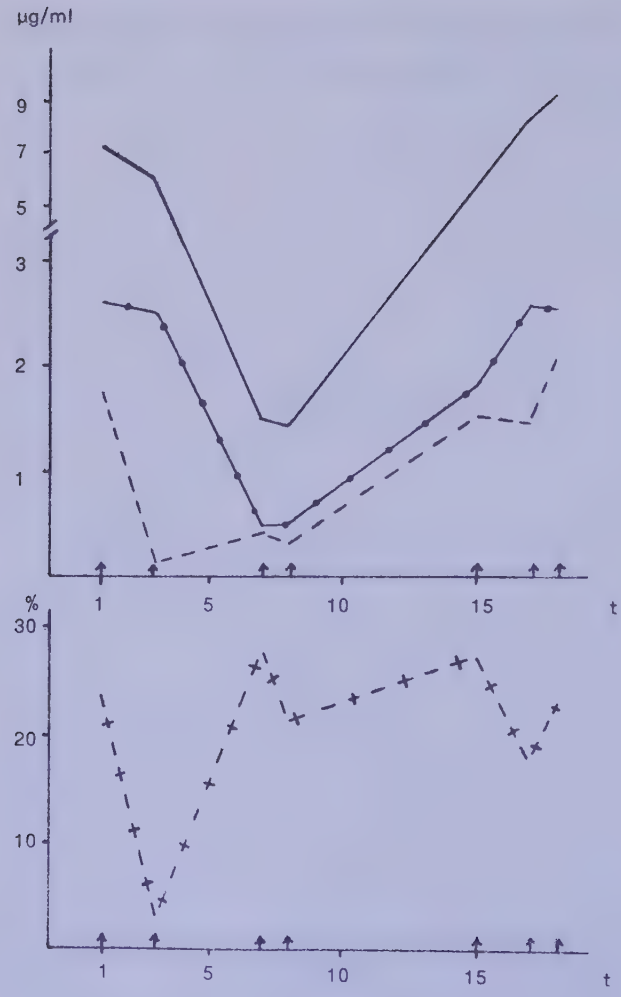


—— = Plasmagesamtkonzentration
– – – = freier Plasmaspiegel
+–+ = relativer freier Plasmaspiegel
●—●—● = Gesamtspeichelspiegel
—·—· = Parotisspeichelspiegel
↑ = Spiegelbestimmung

Der Patient erhielt Carbamazepin und Primidon. Hier sind die Werte für Carbamazepin wiedergegeben.

Sowohl der freie Plasmaspiegel als auch die Speichelspiegel folgen dem Verlauf des Gesamtplasmaspiegels. Der relative freie Plasmaspiegel schwankt jedoch erheblich.

Abbildung 33



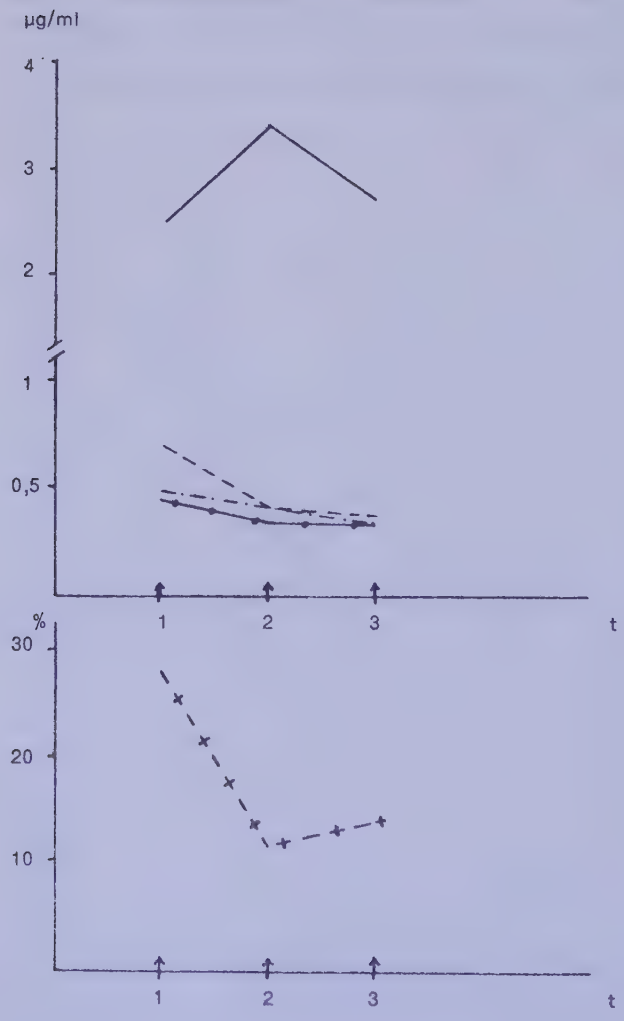
—— = Plasmagesamtkonzentration
– – – = freier Plasmaspiegel
+–+ = relativer freier Plasmaspiegel

●–●–● = Gesamtspeichelspiegel
↑ = Spiegelbestimmung

Der Patient erhielt Carbamazepin.

Auch hier folgen freier Plasmaspiegel und Speichelspiegel dem Verlauf des Plasmagesamtspiegels. Ebenso zeigt auch hier wie in Abbildung 32 der relative freie Plasmaspiegel einen sehr variablen Verlauf.

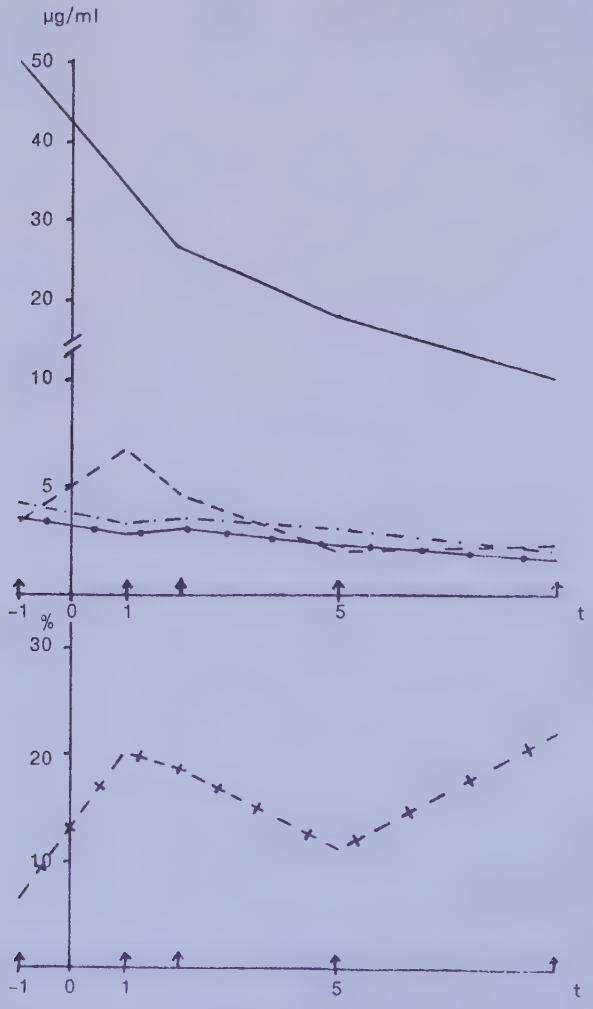
Abbildung 34



Der Patient erhielt Phenytoin.

Freier Plasmaspiegel und Speichelspiegel entsprechen sich in ihrem Verlauf, decken sich aber nicht mit dem Verlauf des Plasmagesamtspiegels.

Abbildung 35

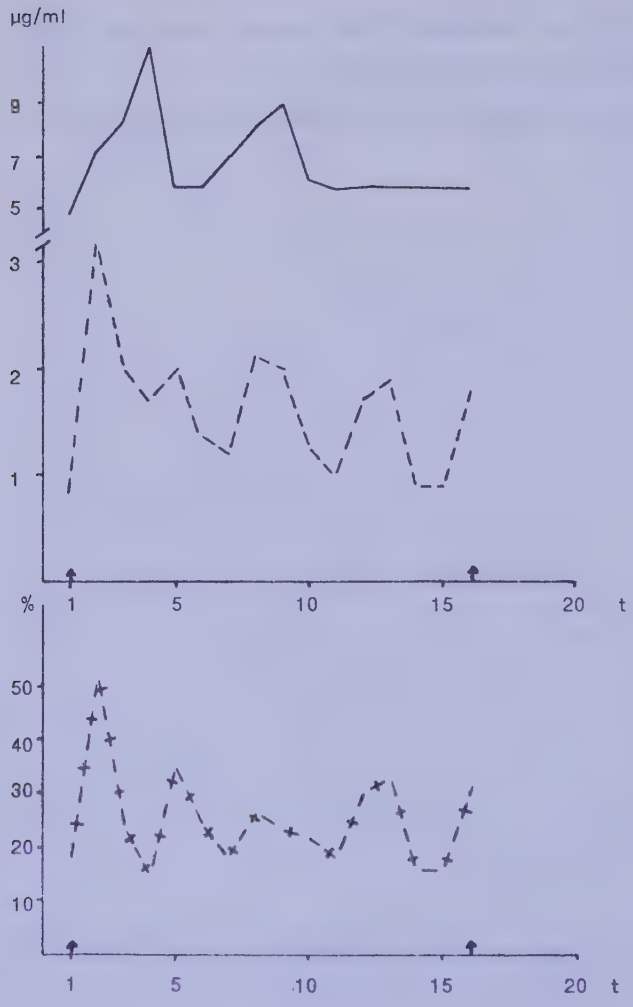


— = Plasmagesamtkonzentration
- - - = freier Plasmaspiegel
+ – + = relativer freier Plasmaspiegel
●—●—● = Gesamtspeichelspiegel
—·—·— = Parotisspeichelspiegel
↑ = Spiegelbestimmung

Der Patient erhielt Phenytoin und am Schnittpunkt der Kurve mit der y-Achse Valproinat als zusätzliches Medikament.

Auch hier fällt wie in Abbildung 30 der sofortige Anstieg des relativen freien Plasmaspiegels nach Valproinatgabe auf.
Bei Beginn der Komedikation zeigte der Patient Intoxikationserscheinungen.

Abbildung 36



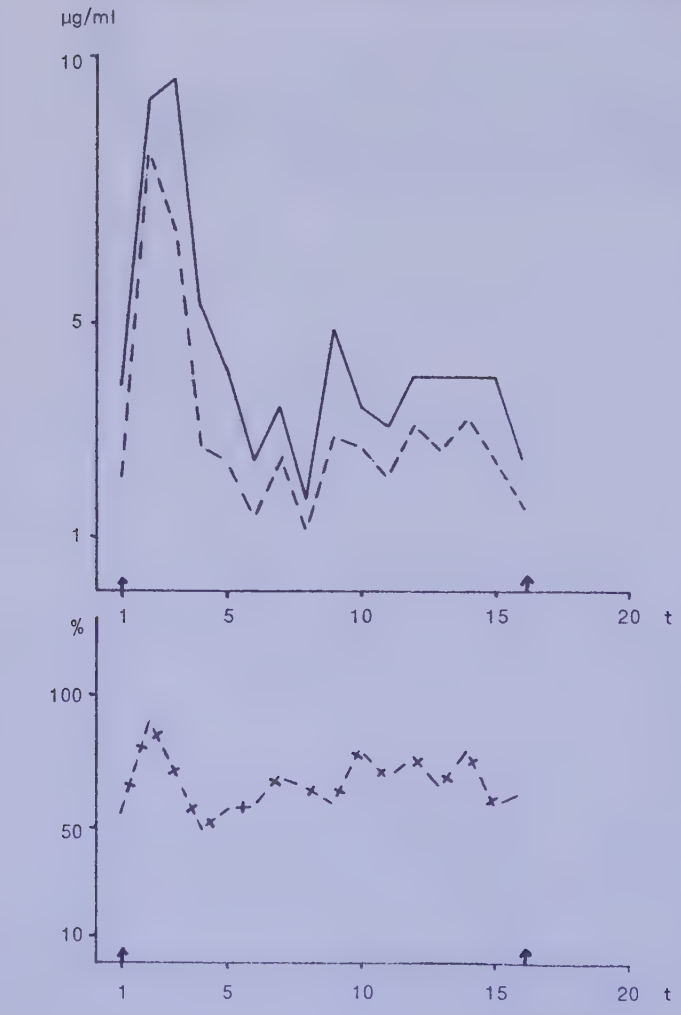
——= Plasmagesamtkonzentration
+—+—+= relativer freier Plasmaspiegel
---= freier Plasmaspiegel
= Spiegelbestimmung

Es erfolgte an den Tagen 1 bis 16 jeweils eine Spiegelbestimmung.

Der Patient erhielt Carbamazepin und Primidon (siehe Abbildung 37).

Hier ist die Kurve für Carbamazepin wiedergegeben. Der freie Plasmaspiegel weist ebenso wie der relative freie Plasmaspiegel stärkere Schwankungen als der Plasmagesamtspiegel auf.

Abbildung 37



Es erfolgte an den Tagen 1 bis 16 jeweils eine Spiegelbestimmung.

Hierbei handelt es sich um denselben Patienten wie in Abbildung 36. Wiedergegeben ist die Kurve für Primidon.

Der freie Plasmaspiegel folgt dem Plasmagesamtspiegel. Auch die Schwankungen des relativen freien Plasmaspiegels sind geringer als in Abbildung 36.

4.5. Zusammenfassung der Ergebnisse

4.5.1. Ergebnisse der Analysen des freien Plasmaspiegels nach Ultrafiltration

4.5.1.1. Vergleich zwischen Neueinstellung und Dauertherapie

Der relative freie Plasmaspiegel wurde für 2 Patientengruppen mit Monotherapie errechnet:
Die eine wurde auf **ein** Antikonvulsivum neu eingestellt, die andere erhielt **ein** Antikonvulsivum bereits seit mindestens drei Wochen. Die mittleren relativen freien Plasmaspiegel bei Carbamazepin und Primidon waren auch nach längerer Einnahme unverändert. Ein leicht erhöhter relativer freier Plasmaspiegel zeigte sich jedoch bei Neueinstellung auf Phenytoin.

4.5.1.2. Auswirkungen von Kombinationstherapien

4.5.1.2.1. Auswirkungen einer Kombinationstherapie mit zwei Antikonvulsiva auf den relativen freien Plasmaspiegel der Primärsubstanz

Untersucht wurden Patientengruppen, die

a) 2 Antikonvulsiva in Dauertherapie erhielten

oder b) mit Monotherapie nicht ausreichend eingestellt waren und daher auf ein zweites Antikonvulsivum zusätzlich eingestellt wurden.

Als Vergleichsgruppe dienten jeweils Patienten, die das betreffende Antikonvulsivum in Monotherapie erhielten.
Wesentliche Veränderungen zeigte die Proteinbindung nur bei Primärmedikation mit Phenytoin bei zusätzlicher Neueinstellung auf Valproinat. Der relative freie Phenytoinanteil erhöhte sich hierbei um 32 %.

4.5.1.2.2. **Auswirkungen zusätzlicher nicht-antikonvulsiver Medikamente auf den relativen freien Plasmaspiegel von Antikonvulsiva**

Die Untersuchung bezog sich auf Medikamente, die aufgrund ihrer Eiweißbindung und molaren Konzentration im therapeutischen Bereich als Substanzen in Frage kommen, die mit Antikonvulsiva um Bindungsstellen konkurrieren. Als Vergleichsgruppe dienten diejenigen Patienten, die keines dieser Medikamente zusätzlich erhielten. Ein deutlicher Einfluß auf die Proteinbindung war nur in einem Fall mit Diazepamgabe am Vortag zu erkennen: Der relative freie Plasmaspiegel von Carbamazepin verringerte sich im Vergleich zu dem bei Patienten ohne Diazepam-Zusatzmedikation um 87 %.

4.5.1.3. **Nicht-medikamentöse Einflüsse auf die Plasmaproteinbindung von Antikonvulsiva**

4.5.1.3.1. **Einflüsse geringgradiger Abweichungen der Leber- und Nierenfunktion auf die Proteinbindung (freie Spiegel)**

Der relative freie Plasmaspiegel von Gesunden wurde mit dem von Patienten mit mäßigen Abweichungen der Leber- und Nierenfunktion (± 50 % der Altersnorm) verglichen. Lediglich Carbamazepin zeigte eine leichte Erhöhung des relativen freien Plasmaspiegels in Abhängigkeit von veränderten Leber- und Nierenwerten.

4.5.1.3.2. **Korrelation zwischen der Proteinbindung (freie Spiegel) der Antikonvulsiva und der Konzentration verschiedener Bindungsproteine**

Die relativen freien Plasmaspiegel der einzelnen Antikonvulsiva korrelierten dabei nicht mit der Konzentration der Plasmaproteine und des Hämoglobins.

4.5.1.4. **Abhängigkeit der freien Spiegel von der Gesamtkonzentration der Antikonvulsiva**

Die Korrelation der absoluten bzw. relativen freien Spiegel zur Gesamtkonzentration zeigte für Carbamazepin, Primidon und Phenobarbital eine lineare Beziehung.
Phenytoin bildete eine Ausnahme: Hier sank der relative freie Plasmaspiegel mit steigender Gesamtkonzentration. Diese Beobachtung ließ sich auch **intra**individuell machen.

4.5.1.5. **Interindividuelle Unterschiede des relativen freien Plasmaspiegels**

Für Primidon und Phenobarbital reichte die **inter**individuelle Spanne bis zum Doppelten des niedrigsten Wertes, bei Carbamazepin und Phenytoin bis zum Fünffachen.

4.5.1.6. **Intraindividuelle Schwankungen des relativen freien Plasmaspiegels**

Die **intra**individuellen Schwankungen betrugen für Carbamazepin und Phenytoin bei erheblichen Extremwerten durchschnittlich das Zweifache, für Primidon und Phenobarbital lediglich das 1,3- bis 1,5fache.

4.5.2. **Ergebnisse der Analysen der Speichelspiegel der Antikonvulsiva**

4.5.2.1. **Vergleich der Medikamentenspiegel im Parotis- und Gesamtspeichel mit dem freien Plasmaspiegel**

Der relative Anteil im Speichel lag in fast allen Fällen geringgradig über dem relativen freien Plasmaspiegel. Ein niedrigerer relativer Anteil fand sich nur in zwei Fällen (Phenytoin Gesamtspeichel, Phenobarbital Gesamtspeichel). Er lag im Parotisspeichel jeweils höher als im Gesamtspeichel.

4.5.2.2. **Abhängigkeit der relativen Speichelspiegel von der Gesamtplasmakonzentration der Antikonvulsiva**

Die relativen Speichelspiegel änderten sich bei Carbamazepin, Primidon und Phenobarbital bei unterschiedlichen Gesamtkonzentrationen nicht. Eine Ausnahme machte auch hier Phenytoin, das einen nicht-linearen Abfall der relativen Speichelspiegel bei steigender Gesamtkonzentration zeigte.

4.5.2.3. **Einzelbeobachtungen verschiedener Patienten über einen längeren Zeitraum**

Die Ergebnisse der Einzelstudien an sieben Patienten zeigen durch wiederholte Gegenüberstellung der Konzentrationen in Plasma und Speichel eine erhebliche **Intra**individuelle Variabilität. Die Gesamtspeichelwerte lagen bis auf wenige Ausnahmen niedriger als die Parotisspeichelwerte, zu denen sie aber stets eine enge Beziehung aufwiesen.

5. Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es, pharmakokinetische Überlegungen zur Notwendigkeit eines erweiterten Drug-Monitoring bei der Überwachung antikonvulsiver Therapie anhand eines großen Patientenkollektivs zu überprüfen. Die Messung des freien, pharmakologisch relevanten Plasmaspiegels unter verschiedenen therapeutischen Gegebenheiten stand dabei im Mittelpunkt dieser Untersuchungen.
Besondere Beachtung fanden wechselseitige Verdrängungen antikonvulsiver Medikamente aus der Proteinbindung, wie sie bei Kombinationstherapie auftreten können. Ein weiterer Hauptaspekt befaßte sich mit der Überprüfung des Bindungsgrades eines Antikonvulsivums unter steady-state Bedingungen im Vergleich zur Neueinstellung.

Unser Gesamtergebnis zeigt bei erheblicher **inter**individueller Variabilität nur zum Teil eine praktische Bestätigung experimentell erzielter Ergebnisse. Somit unterstützt es die Forderung nach Erweiterung der Plasmaspiegelkontrollen auf freie Spiegel nur partiell. Ausnahmen finden sich bei Phenytoin- und Carbamazepintherapie, wie weiter unten erläutert wird.

Methodische Ergebnisse konnten aus vergleichenden Konzentrationsbestimmungen im Speichel gewonnen werden, die sich in unseren Untersuchungen als zuverlässige Alternative zur Blutspiegelkontrolle erwiesen. Größerer Zeitaufwand und Kooperationsfähigkeit des Patienten setzen dem Verfahren Grenzen und lassen es daher für routinemäßige Anwendung ungeeignet erscheinen.

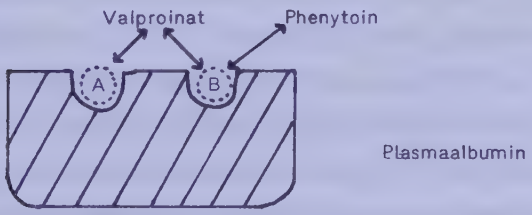
Interferenz verschiedener gleichzeitig verabreichter Antikonvulsiva

Ein Hauptgedanke der vorliegenden Arbeit ist das Interferenzproblem, wobei die Frage, inwieweit Verdrängungen aus der Eiweißbindung bei der Kombination zweier oder mehrerer Antikonvulsiva zu erwarten sind, im Vordergrund stand. Besonders die zusätzliche Neueinstellung auf ein zweites Antikonvulsivum darf nicht durch unvorhersehbare Änderungen der Proteinbindung und damit der pharmakologisch wirksamen freien Spiegel zu einer Intoxikation des Patienten führen. In unserer Untersuchung zeigten die Medikamente Carbamazepin und Primidon in Kombinationstherapie mit anderen Antikonvulsiva nur geringgradige Unterschiede des relativen freien Plasmaspiegels im Vergleich zur Monotherapie. Diese Ergebnisse bestätigen die in vitro - Untersuchungen von Hooper et al. (1975). Unseren Befunden ist des weiteren zu entnehmen, daß auch keine praktisch bedeutsame Gesamtspiegelveränderung durch Enzyminduktion (Fröscher et al. 1980) erfolgt.

Wir folgern daher, daß die Proteinbindung von Carbamazepin und Primidon auch bei Kombinationstherapie für die praktische Anwendung als konstant angesehen werden kann und deshalb eine Messung freier Spiegel im Rahmen der routinemäßigen Kontrolle nicht sinnvoll ist. Zu beachten sind dabei aber die weiter unten aufgeführten Ausnahmen.

Im Gegensatz dazu zeigen die Meßergebnisse von Valproinat und Phenytoin erhebliche Interferenzen: unter Kombinationstherapie dieser beiden Substanzen stieg der relative freie Phenytoinspiegel um 33 % vom Ausgangswert. Unsere Ergebnisse stehen hier in Übereinstimmung mit Mattson et al. (1978); Bruni et al. (1980 b); Monks, Richens (1980); Rodin et al. (1981).

Offenbar verdrängte Valproinat Phenytoin aus der Proteinbindung und erhöhte somit den Anteil an wirksamer Substanz trotz Abfallens der Gesamtkonzentration infolge der bekannten Enzyminduktion (Patsalos, Lascelles 1977 a; Monks, Richens 1980; Schmidt 1981; Koch et al. 1981). Ein Modell für diese Interaktion entwickelten Kober et al. (1980). Danach ist Albumin dasjenige Protein, das den Hauptanteil an Valproinat bindet. Es besitzt zwei Bindungsstellen für diesen Wirkstoff. Eine dieser Bindungsstellen dient aber auch zur Bindung von Phenytoin. Valproinat verdrängt Phenytoin bereits in geringer Konzentration aus dieser Bindung und erhöht damit dessen freie Konzentration.
Umgekehrt führt eine Verdrängung von Valproinat durch Phenytoin aus der zweiten Bindungsstelle nicht zu einer Erhöhung des freien Valproinatspiegels, da der verdrängte Teil von der ersten Bindungsstelle wieder aufgenommen werden kann.



Zeichnung nach Kober et al.; in: Molecular Pharmacology 18, 237 - 242 (1980)

Auch Koch et al. (1981) bestätigten diesen Verdrängungsmechanismus in ihren Untersuchungen am Rhesusaffen. Gleichzeitig stellten sie jedoch als weitere Auswirkung von Valproinat eine Hemmung des metabolischen Phenytoinabbaus fest, aus der ebenfalls höhere freie Spiegel resultieren. Patsalos, Lascelles (1977 b) wiesen in vitro eine Hemmung des Phenytoinmetabolismus in Rattenlebermikrosomen durch Valproinat nach.

Unterschiedlich wird jedoch die Gefahr der Phenytoinintoxikation durch zu hohe freie Spiegel - hervorgerufen durch oben genannte Mechanismen - beurteilt. Während Rodin et al. (1981) über Intoxikationen berichten, wurden die Auswirkungen einer Valproinat - Phenytoin - Komedikation von Mattson et al. (1978) als klinisch eher unbedeutend bezeichnet. Diese widersprüchliche Einschätzung scheint Folge der unterschiedlichen Berücksichtigung der absoluten freien Spiegel zu sein, die allein mit der Wahrscheinlichkeit einer Intoxikation korrelieren (Rodin et al. 1981).
Wir konnten in einem Fall mit Valproinat bedingtem Anstieg der freien Phenytoinkonzentration ebenfalls klinische Zeichen einer Intoxikation beobachten.

Für diese Komedikation - insbesondere in der Phase der Neueinstellung auf Valproinat als Zweitsubstanz bei vorhergehender Phenytoinmonotherapie - ist zu schließen, daß eine ausschließliche Messung der Phenytoingesamtspiegel im Blut unzureichend ist. Der Abfall der Phenytoinkonzentration kann zu einer Dosiserhöhung verleiten, die im Hinblick auf die stark gestiegene freie Konzentration zu toxischen Spiegeln führt. Hier bringt die zusätzliche Bestimmung der freien Plasmaspiegel wertvolle therapeutische Hinweise.
Eine Kombination weiterer Antikonvulsiva mit Phenytoin zeigte uns in Übereinstimmung mit früheren in vitro - Untersuchungen (Lunde et al. 1970) keine Auswirkungen auf die Plasmaproteinbindung.

Schwankungsbreite der gemessenen Werte

Intra- und interindividuelle Schwankungen sind bei allen Untersuchungen und ihrer Interpretation zu berücksichtigen. Die meisten anderen Autoren haben im Vergleich zu unserer Arbeit kleinere Patientenkollektive untersucht (Mattson et al. 1978; Bruni et al. 1980 a; Monks, Richens 1980; Rodin et al. 1981). Während in der vorliegenden Arbeit Patienten einer neurologischen Klinik und Poliklinik untersucht wurden, handelte es sich bei den zitierten Untersuchungen häufig um ein ausgewähltes Kollektiv, so daß die große interindividuelle Streubreite teilweise selektions-bedingt ist. Auch an gesunden Probanden wurden Experimente durchgeführt (Urien et al. 1981). Eine Übertragung dieser Werte und Ergebnisse auf größere Patientengruppen ist jedoch nur beschränkt möglich, da - wie wir zeigen konnten - erhebliche Schwankungen zwischen den einzelnen Patienten auftreten. Alle von uns durchgeführten Blutspiegelmessungen zeigten eine unterschiedlich starke, von erkennbaren exogenen und endogenen Faktoren unabhängige interindividuelle Variabilität. Die Spanne der relativen freien Antikonvulsivaspiegel reichte bei Primidon und Phenobarbital bis zum Doppelten, bei Carbamazepin und Phenytoin bis zum 5-fachen des kleinsten Wertes. Intraindividuell war die Streuung geringer, betrug jedoch für Carbamazepin und Phenytoin durchschnittlich das Doppelte. Hooper et al. (1975) und Mac Kichan et al. (1981) fanden für Carbamazepin ähnliche, Lunde et al. (1970) für Phenytoin geringere Streuungen.

Diese Beobachtung schränkt die Verwertbarkeit von Bestimmungen für interindividuelle Analogieschlüsse oder Voraussagen des weiteren intraindividuellen Verlaufs erheblich ein. Es ist durchaus möglich, daß bei therapeutischen Gesamtspiegeln der freie Spiegel sehr niedrig liegt und

sich damit nur wenig wirksame Substanz im Blut befindet. Ebenso ist der umgekehrte Fall denkbar: der freie Spiegel könnte bei normalem Gesamtspiegel sehr hoch, möglicherweise schon in der Nähe toxischer Werte liegen, ohne daß sich dieses jedoch in Intoxikationssymptomen manifestiert. Eine Bestimmung der freien Konzentrationen ist aus diesem Grunde - besonders für Carbamazepin - nötig.

Interferenz mit nichtantikonvulsiven Zusatzmedikamenten

Interferenzerscheinungen sind nicht nur bei Komedikation mehrerer Antikonvulsiva, sondern auch bei zusätzlicher Verabreichung anderer, nichtantikonvulsiver Medikamente in Betracht zu ziehen. Beachtet werden muß hierbei neben der prozentualen Eiweißbindung das molare Konzentrationsverhältnis, in dem die Medikamente vorliegen.
Es konnte gezeigt werden, daß Phenytoin von einer Reihe von Substanzen, die bei therapeutischen Dosen hohe molare Konzentrationen aufweisen, aus der Albuminbindung verdrängt wird (Lunde et al. 1970). Hooper et al. (1975); Hansen et al. (1980) und Neuvonen et al. (1981) fanden in vitro und in vivo bei Anwendung verschiedener Zweitsubstanzen keinen wesentlichen Einfluß auf die Proteinbindung von Phenytoin. Das molare Konzentrationsverhältnis blieb in diesen Arbeiten allerdings unberücksichtigt.

Die von uns untersuchten Substanzen (Bromazepam, Diazepam, Promethazin-HCl, Flurazepam-HCl, Penizillin) liegen im therapeutischen Bereich zum Teil in einem annähernd äquimolaren Verhältnis vor. Unsere Untersuchung gab keinen Anhalt für praktisch relevante Änderungen der Proteinbindung der Antikonvulsiva, so daß hier kein Interferenzproblem besteht. Eine zu-

sätzliche Bestimmung des freien Plasmaspiegels erscheint deshalb für das Drug Monitoring nicht notwendig.

Weitere begünstigende Faktoren für die Verdrängung einer an Plasmaproteine gebundenen Substanz durch eine andere sind:

a) hohe Affinität beider Substanzen zu derselben Bindungsstelle,
b) hohe molare Konzentration der verdrängenden Substanz in Relation zum bindenden Plasmaeiweiß
und
c) Abhängigkeit vom sauren beziehungsweise basischen Charakter der Substanzen.

Diese Abhängigkeiten sind beschrieben worden (Wandell, Thole 1982). In unserer Patientengruppe und bei den hier untersuchten Medikamentekombinationen bestanden diese besonderen Verhältnisse zwar nicht; bei Patienten mit schweren Stoffwechselentgleisungen könnten diese Faktoren aber durchaus praktische Bedeutung bekommen.

Unterschiede zwischen Neueinstellung und Langzeittherapie

Neben der Analyse des Interferenzproblems ergab sich aus unserer Untersuchung zur Proteinbindung ein weiterer Aspekt. Im allgemeinen sollte die Proteinbindung im steady-state der bei Neueinstellung vergleichbar sein (Fröscher et al. 1980; Schmidt 1981). Bei Phenytoin zeigte sich ein überraschendes Ergebnis: bei Neueinstellung fanden sich durchschnittlich um 20 % höhere Konzentrationen der freien Spiegel als im steady-state. Andere Antikonvulsiva zeigten diese Veränderung der Proteinbindung nicht: die Meßwerte für die einzelnen Medikamente lagen hier in dem Bereich,

der von anderen Autoren (Paxton, Donald 1980; Schmidt 1981) angegeben wird. Auch hier also nimmt Phenytoin eine Sonderstellung ein. Ein Hinweis auf diese Diskrepanz zwischen Neueinstellung und länger andauernder Therapie findet sich in der Literatur nicht.

Es ist damit also nicht möglich, steady-state Werte für relative freie Phenytoinspiegel auf die wirklichen Verhältnisse bei Neueinstellung zu übertragen. Vielmehr ist es sinnvoll, die Therapiekontrolle durch zusätzliches Bestimmen der freien Spiegel zu erweitern.

Einfluß von Leber- und Nierenfunktionsstörungen

Über die Auswirkungen von Leber- und Nierenfunktionsstörungen auf die Proteinbindung einiger Antikonvulsiva ist mehrfach berichtet worden (Ehrnebo, Odar-Cederlöf 1975; Reidenberg 1976; Kinniburgh, Boyd 1981). Wir haben unsere Patientengruppe daraufhin untersucht, ob auch relativ geringe Funktionsstörungen (Veränderung der Leberenzymaktivität und der Parameter der renalen Ausscheidungsfunktion bis zu $\pm$ 50 % von der Altersnorm) dieser für die Pharmakokinetik besonders wichtigen Organe praktisch nachweisbare Einflüsse auf freie - und Gesamtspiegel der Antikonvulsiva besitzen. Aufgrund der Einschlußkriterien sind allerdings in der Gruppe der Patienten mit erhöhten Leberenzymen auch solche, deren Enzymaktivität bereits eine Folge der Dauermedikation darstellt, also nicht als Zeichen einer Lebererkrankung aufzufassen ist. Wie unsere Ergebnisse verdeutlichen, haben diese geringgradigen Abweichungen keinen meßbaren Einfluß auf Plasmakonzentration und Pharmakokinetik der Antikonvulsiva. Weder eine Retention durch die Niere noch ein erhöhter Abbau durch Leberenzyme finden statt.

Diese Beobachtung bestätigen auch andere Autoren (Ehrnebo, Odar-Cederlöf 1975), die Änderungen der Antikonvulsivabindung in Abhängigkeit von der Schwere der Erkrankung beobachteten. Geringgradige Effekte könnten allerdings durch die erhebliche **intra**- und **inter**individuelle Streuung verdeckt werden.

Unser Befund läßt folgern, daß eine Erweiterung des Drug Monitoring auf die Bestimmung freier Spiegel bei geringgradiger Abweichung der Leber- und Nierenfunktion für keines der untersuchten Antikonvulsiva erforderlich ist. Sofern keine schwereren Erkrankungen vorliegen, reichen die Kontrollmessungen der Gesamtspiegel aus.

Einfluß der Proteinbindungskapazität

Die Bedeutung der Plasmaeiweiße für die Pharmakokinetik von Antikonvulsiva ist allgemein anerkannt (Lunde et al. 1970; Ehrnebo, Odar-Cederlöf 1975; Kinniburgh, Boyd 1981; Urien et al. 1981). In den genannten Arbeiten wurde festgestellt, daß die Bindung eines Medikamentes abhängig von der Eiweißkonzentration im Plasma ist. Hier ist besonders Albumin hervorzuheben.

Kommt es zu einer Änderung dieser Eiweißkonzentration (z.B. Erniedrigung bei Urämie), so wird auch die Eiweißbindungskapazität für die Antikonvulsiva proportional geändert. Das bedeutet, daß bei einer Hypalbuminämie therapeutische Antikonvulsiva-Dosen zu hohen freien Spiegeln führen, da das Medikament nicht in dem Maße wie bei normaler Plasmaeiweißkonzentration gebunden werden kann. Die Intoxikationsgefahr ist größer, so daß bei Vorliegen einer Hypalbuminämie auch freie Antikonvulsivaspiegel bestimmt werden müssen. Ehrnebo, Odar-Cederlöf (1975) geben für die Ver-

ringerung des gebundenen Anteils eines Antikonvulsivums bei Urämie zwei mögliche Erklärungen an:

a) Abhängigkeit von der Bindungskapazität:
   Reduzierung der Albuminmoleküle im Plasma führt zur Erniedrigung der verfügbaren Bindungsstellen.

b) Abhängigkeit von der Bindungsaffinität:
   Beeinflussung der Affinitätskonstanten der bevorzugten Bindungsstellen durch bestimmte, nicht bekannte, Faktoren.

Bei der Korrelation der relativen oder absoluten Konzentrationen verschiedener Plasmaeiweiße mit den freien Plasmaspiegeln in unserer Patientengruppe ließen sich keine eindeutigen Beziehungen feststellen. Die Konzentrationen der betreffenden Eiweiße lagen allerdings in einem eng begrenzten Bereich. Daher könnte die Streuung der relativen freien Spiegel auf leichte Kapazitätsunterschiede zurückzuführen sein. Trotz der theoretisch gültigen Beziehung zwischen Eiweißkonzentration und Proteinbindung läßt sich in dem von uns untersuchten Bereich keine signifikante Korrelation praktisch nachweisen.

Beziehung zwischen freien - und Gesamtspiegeln

Bei der Korrelation der freien - mit den Gesamtspiegeln zeigte sich nach log-Transformation für fast alle untersuchten Antikonvulsiva eine lineare Beziehung. Entsprechend den gültigen Hypothesen (Paxton, Donald 1980; Schmidt 1981) fand sich bei Erhöhung der Gesamtkonzentration auch eine Zunahme der freien Pharmakakonzentration, so daß durch Umrechnung der beiden Größen auch ohne zusätzliche Analytik der freien Spiegel auf diese

geschlossen werden konnte. Bestätigt wurde diese Linearität für Carbamazepin, Primidon und Phenobarbital durch Korrelation des relativen freien Plasmaspiegels mit der Gesamtkonzentration, bei der sich ebenfalls Geraden ergaben. Für Phenytoin ließ sich überraschenderweise diese Linearität jedoch nicht feststellen. Ähnlich wie Hooper et al. (1975) für Carbamazepin in vivo zeigte - wir aber für diese Substanz nicht bestätigen konnten - ergab sich in unserer Untersuchung eine annähernd hyperbolische Anordnung der Werte bei Korrelation des relativen freien Spiegels mit der Gesamtkonzentration.

Bei niedrigen Gesamtkonzentrationen war der relative freie Plasmaspiegel hoch, um mit steigender Gesamkonzentration abzunehmen. Diese Beobachtung konnte auch **intra**individuell (Abbildung 25) und im Rahmen der Speichelanalysen gemacht werden. Da Speichel als körpereigenes Ultrafiltrat anzusehen ist, handelte es sich also nicht um ein methodenabhängiges Phänomen.

Das Verhalten der Kurve, die das genaue Gegenteil einer Sättigungscharakteristik zeigt, läßt sich durch eine spiegelabhängige Änderung der Bindungsaffinitäten und/oder -kapazitäten von Plasmaeiweißen erklären. Albumin als Hauptbindungsprotein käme hier eine besondere Bedeutung zu. Das Albuminmolekül besitzt 3 bevorzugte Bindungsstellen für Pharmaka (Sjöholm et al. 1979). Zwei dieser Bindungsstellen, von denen wiederum Phenytoin eine besetzt, dienen bevorzugt der Bindung von Valproinat (Kober et al. 1980). Möglicherweise werden bei höheren Phenytoinkonzentrationen neue Bindungsstellen frei, so daß vermehrt freies Pharmakon aus dem Plasma an Eiweiß gebunden wird.

Eine weitere Deutung fordert neue Eiweißbindungsstellen mit niedrigen

Affinitätskonstanten. Diese reagieren spiegelabhängig, das heißt: nur bei hohen Plasmakonzentrationen wird vermehrt Phenytoin gebunden und so der freie Spiegel erniedrigt.
Ergebnisse von Sjöholm et al. (1976) und Kober et al. (1980) lassen auch an die Möglichkeit einer Verdrängung endogener Bindungsinhibitoren durch steigende Phenytoinkonzentration denken.

Weitere gezielte **inter**individuelle Untersuchungen zu diesem Phänomen erscheinen sinnvoll. Praktisch ergibt sich jedoch aus diesen Beobachtungen nicht die Notwendigkeit der Bestimmung freier Spiegel für Phenytoin, da die unverhältnismäßig hohen freien Konzentrationen nur im unteren Dosis- beziehungsweise Gesamtspiegelbereich beobachtet wurden, in dem Intoxikationen ohnehin nicht zu erwarten sind.

Speichelspiegel und Plasmaultrafiltrat

Einen methodischen Beitrag zur Messung freier Antikonvulsivaspiegel sollten unsere Speichelanalysen liefern. In früheren Publikationen (Troupin, Friel 1975; Bartels et al. 1977; Paxton et al. 1977; Kristensen, Larsen 1980; Paxton, Donald 1980; Goldsmith, Ouvrier 1981) wurde die Konzentrationsbestimmung in "körpereigenen Ultrafiltraten" wie Liquor oder Speichel als Alternative zur Gesamtplasmakontrolle empfohlen. Die Verwendung von Körperflüssigkeiten zur Bestimmung freier Spiegel soll die komplizierte Gewinnung von Ultrafiltraten aus dem Plasma mittels Gleichgewichtsdialyse ausschalten. Bei der Gleichgewichtsdialyse ist eine Trennung unter physiologischen Bedingungen verfahrenstechnisch nicht möglich. Ferner führt die immer auftretende Verdünnung der Probe zu einer Gleichge-

wichtsverschiebung. Das wiederum erforderte die Einführung von Korrekturfaktoren (Sophianopoulos et al. 1978; Jung et al. 1981).
Die Anwendung körpereigener Ultrafiltrate schließt diese Probleme aus und führt zu vergleichbaren Ergebnissen, wie Troupin, Friel (1974) zeigen konnten.

Auch wir erzielten bei der Analyse der Speichelkonzentrationen und ihrer Korrelation mit dem Gesamtplasmaspiegel fur Carbamazepin, Phenytoin und Phenobarbital hohe Korrelationskoeffizienten. Sie lagen bei 0,9. Dabei ergab sich kein Unterschied zwischen Parotis- und Gesamtspeichel. Dies spricht für die Genauigkeit der Speichelspiegel und ihre Eignung zur Epilepsiekontrolle. Sie wird noch einmal bestätigt durch unsere Verlaufsbeobachtungen einzelner Patienten, die gute Korrelationen zwischen Parotisspeichel, Gesamtspeichel und Gesamtkonzentration im Blut zeigen.

Der pH-Wert des Speichels hat nach unserer Untersuchung auf die Konzentration von Carbamazepin, Phenytoin und Primidon keinen Einfluß. Phenobarbital jedoch verteilt sich aufgrund seines pKa-Wertes von 7,1 je nach pH-Wert seiner Umgebung unterschiedlich: bei Azidose z.B. ist die Konzentration im Plasma gegenüber dem Gewebe erniedrigt, bei Alkalose erhöht (Schmidt 1981). Der pH-Wert des Speichels beträgt durchschnittlich 5,8 bis 7,1 und liegt somit niedriger als der des Blutes, wobei im Parotisspeichel das saurere Milieu herrscht (Pilz et al. 1980). Erwartungsgemäß fanden wir daher im Speichel niedrigere freie Konzentrationen als im Plasma, die Werte im Parotisspeichel waren am geringsten.
Der pH-Wert des Speichels kann allerdings in unterschiedlich kurzer Zeit stark variieren (Pilz et al. 1980). Daß er darüber hinaus Abhängig-

keiten von Alter und neurogenen Faktoren zeigt, macht es für Phenobarbital nötig, die Konzentrationen im Speichel durch gleichzeitige pH-Bestimmung zu korrigieren, um auf die freie Konzentration im Plasma schließen zu können.

Da wir zwischen Parotis- und Gesamtspeichel im Hinblick auf die Korrelation mit der Plasmagesamtkonzentration keine Unterschiede feststellen konnten, halten wir bevorzugte Parotisspeichelgewinnung für Speichelspiegelbestimmungen - wie von Anavekar et al. (1978) gefordert - nicht für nötig. Sie begründeten dies mit der größeren Reinheit des Parotisspeichels. Vielmehr sehen wir in Übereinstimmung mit Paxton et al. (1977) und Paxton, Donald (1980) keinen Vorteil der Bestimmung freier Pharmakaspiegel im Parotisspeichel.

Für den Patienten ist das Verfahren der Parotisspeichelgewinnung unangenehm, da der Stenonsche Gang aufgesucht werden muß und die Einführung des Röhrchens zuweilen schmerzhaft ist. Außerdem ist das Verfahren sehr zeitaufwendig. Die Patienten zogen in der Regel dennoch Speichelentnahmen den Blutentnahmen vor, dabei wiederum den Gesamtspeichel. Unsere Erfahrungen decken sich hier mit denen von Day, Chambers (1981) und Rylance, Moreland (1981).
Durch Zentrifugieren des Gesamtspeichels lassen sich grobe Verunreinigungen beseitigen, wodurch der Reinheitsvorteil des Parotisspeichels ausgeglichen wird. Zu berücksichtigen ist jedoch, daß sich im Gesamtspeichel Bakterien befinden können, deren Enzyme den EMIT negativ beeinflussen. Diese Bakterien werden durch Zentrifugieren bei normalen Frequenzen nicht beseitigt. Da die Gesamtspeichelspiegel jedoch in unserer Untersuchung

gut mit den freien Plasmaspiegeln und dem Parotisspeichel korrelieren, ist eine Beeinflussung des EMIT durch Bakterienenzyme bei unserer Methode auszuschließen.

Trotz der Vorteile von Speichelspiegeln ist die Bestimmung von Plasmaspiegeln in der Klinikroutine günstiger, da hier freie - und Gesamtspiegel gleichzeitig bestimmt werden können. Mit der Technik der Ultrafiltration steht nun ein Verfahren zur Verfügung, das die Nachteile der Gleichgewichtsdialyse ausschaltet. Hierdurch ist die Bestimmung freier Plasmaspiegel erheblich vereinfacht worden. Die Eignung der von uns verwendeten Filter ist bereits von Jung et al. (1981) nachgewiesen worden. Wie wir nun zeigen konnten, ist auch ein Einsatz in der täglichen klinischen - beziehungsweise Laborroutine möglich. Unsere freien Plasmaspiegel korrelieren gut mit den freien Speichelspiegeln, wenn auch im Plasma die Streuung höher ist. Die Anwendung von Plasmaspiegeln im Drug Monitoring ist also nach wie vor das Mittel der Wahl. Speichel als Indikator für pharmakokinetische Vorgänge im Blut könnte jedoch bei zukünftigen Bestrebungen in Richtung der Selbstkontrolle der Patienten - ähnlich der Diabetesüberwachung mit Teststreifen - Bedeutung erlangen, falls entsprechende Testmethoden entwickelt werden können.

Aus den oben diskutierten Vor- und Nachteilen der einzelnen Spiegel kommen wir zu folgenden Empfehlungen zur Bestimmung freier Medikamentespiegel im "Therapeutic Drug Monitoring" epileptischer Patienten:
Im Rahmen der täglichen Routine bleibt weiterhin der Gesamtplasmaspiegel der Hauptindikator für die Einstellung des Patienten. Freie Plasmaspie-

gel bleiben auf einige wenige Fälle beschränkt, wie sie in Tabelle 14 aufgeführt sind.

Die Bestimmung freier Speichelspiegel sollte als "unblutige Methode" auf die Spiegelkontrolle bei Kindern beschränkt bleiben (Day, Chambers (1981); Rylance, Moreland (1981). Hier reicht dann der Gesamspeichel aus.

Tabelle 14

Fälle, in denen sich die Bestimmung freier Plasmaspiegel empfiehlt

Carbamazepin	Phenytoin	Primidon	Phenobarbital
regelmäßig, wegen hoher **intra**individueller Schwankungen	bei Komedikation mit Valproinat bei Neueinstellung		
bei niedrigen Plasma - Eiweißkonzentrationen, z.B. Hypalbuminämie (Es besteht die Möglichkeit von Intoxikationen bei normalen therapeutischen Dosen)			

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollten Antikonvulsivaspiegel in verschiedenen Stadien der Therapie und Interferenzen der Medikamente untereinander untersucht werden. Es zeigten sich folgende Ergebnisse:

- Starke **intra**- und **inter**individuelle Schwankungen bestimmen alle Untersuchungen.
- Valproinat verdrängt Phenytoin aus der Bindung und erhöht dessen freie Konzentration. Andere Medikamentenkombinationen beeinflussen sich nicht.
- Die von uns untersuchten nicht-antikonvulsiven Zusatzmedikamente beeinflussen die Antikonvulsiva nicht.
- Bei Neueinstellung auf Phenytoin sind höhere Spiegel zu erwarten als bei Langzeittherapie.
- Geringe Leber- und Nierenfunktionsstörungen ändern die Antikonvulsivaproteinbindung nicht.
- Speichelspiegel sind dem Plasmaultrafiltrat gleichwertig.

Unsere Ergebnisse lassen, verglichen mit den Befunden anderer Autoren, folgende Schlüsse zu:

- Die Bestimmung freier Antikonvulsivaspiegel ist nicht routinemäßig durchzuführen, sondern auf bestimmte Fälle zu beschränken.
- Bei der Bestimmung freier Spiegel ist das Plasmaultrafiltrat dem Speichel vorzuziehen, da so gleichzeitig die Ermittlung von Gesamtspiegeln möglich ist.
- Sollen Speichelspiegel bestimmt werden, genügt Gesamtspeichel.
- Speichelspiegel eignen sich besonders bei Kindern.

7. Literaturverzeichnis

1.) Anavekar S.N., R.H. Saunders, W.M. Wardell, I. Shoulson, F.G. Emmings, C.E. Cook, A.J. Gringeri: Parotid and whole saliva in the prediction of serum total and free phenytoin concentrations. Clin. Pharmacol. Ther. (St. Louis) 24, 629-637 (1978)

2.) Bartels H., H.-D. Oldigs, E. Günter: Use of saliva in monitoring carbamazepine medication in epileptic children. Eur. J. Pediatr. (Berlin) 126, 37-44 (1977)

3.) BMDP, Statistical Software, Dixon W.J., chief editor, University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London (1981)

4.) Bochner F., W.D. Hooper, M.J. Eadie, J.M. Sutherland, J.H. Tyrer: Diphenylhydantoin concentration in saliva. Arch. Neurol. (Chicago) 31, 57-59 (1974)

5.) Bruni J., L.H. Wang, T.C. Marburg, C.S. Lee, B.J. Wilder: Protein binding of valproic acid in uremic patients. Neurology (Minneapolis) 30, 557-559 (1980 a)

6.) Bruni J., J.M. Gallo, C.S. Lee, R.J. Perchalski, B.J. Wilder: Interactions of valproic acid with phenytoin. Neurology (Minneapolis) 30, 1233-1236 (1980 b)

7.) Buchthal F., O. Svensmark: Serum concentrations of diphenylhydantoin (phenytoin) and phenobarbital and their relation to therapeutic and toxic effects. Psychiatr. Neurol. Neurochir. (Amsterdam) 74, 117-136 (1971)

8.) Buchthal F., O. Svensmark, P.J. Schiller: Clinical and electoencephalographic correlation with serum levels of diphenylhydantoin. Arch Neurol. (Chicago) 2, 642-630 (1960)

9.) Day R.E., R.E. Chambers: Salivary anticonvulsant levels in children with epilepsy. Br. J. Clin. Pract. (London) 35, 25-29 (1981)

10.) Ehrnebo M., I. Odar-Cederlöf: Binding of amobarbital, pentobarbital and diphenylhydantoin to blood cells and plasma proteins in healthy volunteers and uremic patients. Eur. J. Clin. Pharmacol. (Berlin) 8, 445-453 (1975)

11.) EMIT-aed: Antiepileptic drug assays; Arbeitsanleitung zum Kalibratorsatz und den Reagenzien. Syva Corp., Palo Alto, CA 94303 (1981)

12.) EMIT-aed Suppiement: Application of EMIT-aed assays to the ENI-GEMSAEC centrifugal fast analyzer. Syva Corp., Palo Alto, CA 94303 (1980)

13.) Fleitman J.S., J. Bruni, J.H. Perrin, B.J.Wilder: Albumin-Binding interactions of sodium valproate. J. Clin. Pharmacol. (Stamford CT) 20, 514-517 (1980)

14.) Fröscher W., M. Eichelbaum, R. Gugler, G. Hildenbrand: Medikamentöse Therapie der Epilepsien unter Kontrolle der Antiepileptika-Serumspiegel. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York (1980)

15.) Goldsmith R.F., R.A. Ouvrier: Salivary anticonvulsant levels in children. a comparison of methods. Ther. Drug. Monit. (New York) 3, 151-157 (1981)

16.) Hamilton H.E., J.E. Wallace: Ultraviolet spectrophotometric quantitation of phenytoin and phenobarbital. in: Antiepileptic drugs: Quantitative analysis and interpretation. eds.: C.E. Pippenger, J.K. Penry, H. Kutt, Raven Press, New York (1978)

17.) Hansen B.S., M. Dam, J. Brandt, E.F. Hvidberg, H. Angelo, J.M. Christensen, P. Lons: Influence of detropropoxaphene on steady state serum levels and protein binding of three anti-epileptic drugs in man. Acta Neurol. Scand. (Copenhagen) 61, 357-367 (1980)

18.) Hooper W.D., D.K. Dubetz, F. Bochner, L.M. Cotter, G.A. Smith, M.J. Eadie, J.H. Tyrer: Plasma protein binding of carbamazepine. Clin. Pharmacol. Ther. (St. Louis) 17, 433-440 (1975)

19.) Izutsu A., D. Lenny, C. Araps, P. Singh, A. Jaklitsch, D.S. Kabakoff: Homogeneous enzyme immunoassay for valproic acid in serum (Syva Company, Palo Alto, CA 94303; Spon: L.L. Line). Clin. Chem. (New York) 25, 1093 (1979)

20.) Johanessen S.J., R.E. Strandjord: Concentration of carbamazepine (Tegretol) in serum and in cerebrospinal fluid in patients with epilepsy. Epilepsia (New York) 14, 373-379 (1973)

21.) Jung D., M. Mayersohn, D. Perrier: The "Ultra Free" ultrafiltration technique compared with equilibrium dialysis for the determination of unbound thiopental concentrations in serum. Clin. Chem. (New York) 27, 166-168 (1981)

22.) Kießling K.: Bestimmung von Phenytoin und Carbamazepin im Speichel und Plasma mit der Enzym-Immun-Assay-Methode. Med. Diss. Tübingen (1979)

23.) Kinniburgh D.W., N.D. Boyd: Phenytoin binding to partially purified albumin in renal disease. Clin. Pharmacol. Ther. (St. Louis) 29, 203-210 (1981)

24.) Kober A., Y. Olsson, I. Sjöholm: Binding of drugs to human serum albumin; XIV. The theoretical basis for the interaction between phenytoin and valproate. Mol. Pharmacol. (New York) 18, 237-242 (1980)

25.) Koch K.M., B. Teri Ludwick, R.H. Levy: Phenytoin-valproic acid interaction in rhesus monkey. Epilepsia (New York) 22, 19-25 (1981)

26.) Kristensen O., H.F. Larsen: Value of saliva samples in monitoring carbamazepine concentrations in epileptic patients. Acta Neurol. Scand. (Copenhagen) 61, 344-350 (1980)

27.) Kutt N., J.K. Penry: Usefulness of blood levels of antiepileptic drugs. Arch. Neurol. (Chicago) 31, 283 (1974)

28.) Lund L., A. Berlin, P.K.M. Lunde: Plasma protein binding of diphenylhydantoin in patients with epilepsy: agreement between the unbound

fraction in plasma and the concentration in the cerebrospinal fluid. Clin. Pharmacol. Ther. (St. Louis) 13, 196-200 (1972)

29.) Lunde P.K.M., A. Rane, S.J. Yafte, L. Lund, F. Sjöqvist: Plasma protein binding of diphenylhydantoin in man. Interaction with other drugs and the effect of temperature and plasma dilution. Clin. Pharmacol. Ther. (St. Louis) 11, 846-855 (1970)

30.) Mac Kichan J.J., P.K. Duftner, M.E. Cohen: salivary concentrations and plasma protein binding of carbamazepine and carbamazepine 10,11-epoxide in epileptic patients. Br. J. Clin. Pharmacol. (London) 12, 31-37 (1981)

31.) Mattson R.H., J.A. Cramer, P.D. Williamson, R.A. Novelly: Valproic acid in epilepsy: clinical and pharmacologocal effects. Ann. Neurol. (Boston) 3, 20-25 (1978)

32.) Monaco F., R. Mutani, C. Mastropaolo et al.: Tears as the best practical indicator of the unbound fraction of an anticonvulsant drug. Epilepsia (New York) 20, 705-710 (1979)

33.) Monaco F., S. Piredda, R. Mutani, C. Mastropaolo, M. Tondi: The free fraction of valproic acid in tears, saliva and cerebrospinal fluid. Epilepsia (New York) 23, 23-26 (1982)

34.) Monks A., A. Richens: Effect of single doses of sodium valproate on serum phenytoin levels and protein binding in epileptic patients. Clin. Pharmacol. Ther. (St. Louis) 27, 89-95 (1980)

35.) Neuvonen P.J., R.A. Tokola, M.Kaste: Cimetidine-phenytoin interactions: effect on serum phenytoin concentrations and antipyrine test. Eur. J. Clin. Pharmacol. (Berlin) 21, 215-220 (1981)

36.) Patel J.H., R.H. Levy: Valproic acid binding to human serum albumin in the presence of anticonvulsants and free fatty acids. Epilepsia (New York) 20, 85-90 (1979)

37.) Paxton J.W., R.A. Donald: Concentrations and kinetics of carbamazepine in whole saliva, parotid saliva, serum ultrafiltrate and serum. Clin.

Pharmacol. Ther. (St. Louis) 28, 695-702 (1980)

38.) Paxton J.W., B.W. Whiting, K.W. Stephen: Phenytoin concentrations in mixed, parotid and submandibular saliva and serum measured by radioimmunoassay. Br. J. Pharmacol. (London) 4, 185-191 (1977)

39.) Patsalos P.N., P.T. Lascelles: Effect of sodium valproate on plasma protein binding of diphenylhydantoin. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry (London) 40, 570-574 (1977 a)

40.) Patsalos P.N., P.T. Lascelles: In vitro hydroxilation of diphenylhydantoin and its inhibition by other commonly used anticonvulsant drugs. Biochem Pharmacol. (Oxford) 26, 1929-1933 (1977 b)

41.) Pilz W., C.H. Plathner, H. Taatz: Grundlagen der Kariologie und Endodontie. Carl Hanser Verlag, München, Wien (1980)

42.) Pippenger C.E., R.J. Bastiani, R.S. Schneider: Evaluation of an experimental homogeneous enzyme immuno-assay for the quantitation of diphenylhydantoin and phenobarbital in serum or plasma. in: Clinical pharmacology of antiepileptic drugs. eds.: H. Schneider et al. 331-335, Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1975)

43.) Reidenberg M.: The binding of drugs to plasma proteins from patients with poor renal function. Clin. Pharmacokinet. (New York) 1, 121-125 (1976)

44.) Rodin E.A., G. De Sousa, D. Haidukewych, R. Lodhi, R.C. Berchou: Dissociation between free and bound phenytoin levels in presence of valproate sodium. Arch. Neurol. (Chicago) 38, 240-242 (1981)

45.) Rylance G.W., T.A. Moreland: Saliva carbamazepine and phenytoin level monitoring. Arch. Dis. Child. (London) 56, 637-652 (1981)

46.) Schmidt D.: Behandlung der Epilepsien, medikamentös-psychosozial-operativ. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1981)

47.) Schmidt D.: Measurement of diphenylhydantoin and phenobarbital by enzyme immunoassay and gas liquid chromatography. J. Neurol. (Berlin) 41, 213 (1976)

48.) Schmidt D., H.J. Kupferberg: Diphenylhydantoin, phenobarbital, and primidone in saliva, plasma, and cerebrospinal fluid. Epilepsia (New York) 16, 735-741 (1975)

49.) Schottelius D.D.: Homogeneous immunoassay system (EMIT) for quantitation of antiepileptic drugs in biological fluids. in: Antiepileptic drugs: quantitative analysis and interpretation. eds.: C.E. Pippenger, J.K. Penry, H. Kutt. Raven Press, New York, 95 ff (1978)

50.) Sjöholm I., B. Ehmann, A. Kober, I. Sjungstedt-Pählmann, B. Seivung, T. Sjodin: Binding of drugs to human serum albumin. The specifity of three binding sites as studied with albumin immobilized in microparticles. Mol. Pharmacol. (New York) 16, 767-777 (1979)

51.) Sjöholm I., A. Kober, I. Odar-Cederlöf, O. Borga: Protein binding of drugs in uremic and normal serum: the role of endogeneous binding inhibitors. Biochem. Pharmacol. (Oxford) 25, 1205-1213 (1976)

52.) Sophianopoulos J.A., S.J. Durham, A.J. Sophianopoulos et al.: Ultrafiltration is theoretically equivalent to equilibrium dialysis but much simpler to carry out. Arch. Biochem. Biophys. (New York) 187, 132-139 (1978)

53.) Troupin A.S., P. Friel: Anticonvulsant level in saliva, serum and cerebrospinal fluid. Epilepsia (New York) 16, 223-227 (1975)

54.) Urien S., E. Albengres, J.-P. Tillement: Serum protein binding of valproic acid in healthy subjects and in patients with liver disease. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. (München) 19, 313-325 (1981)

55.) Wandell H.G., W. Thole: Protein binding and free drug concentrations. in: "Applied Clinical Pharmacokinetics". Raven Press, New York (1983) (im Druck)

56.) Weber E.: Grundriss der biologischen Statistik. Anwendung der mathematischen Statistik in Forschung, Lehre und Praxis. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York (1980)

57.) Woodbury D.M., E. Fingl: Drugs effective in the therapy of the epilepsies. in: L.S. Goodman, A. Gilman: The parmacological basis of therapeutics. Mac Millan, New York (1975)

Danksagung

Unser besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Toyka für die Überlassung des Themas, Übernahme des Referats und kooperative Anleitung zur Durchführung der Studie.

Wir danken Herrn Prof. Dr. Reinauer für die Übernahme des Korreferats, Frau Dr. Trockel für hilfreiche Unterstützung bei der praktischen Ausführung der Untersuchungen und Herrn Dipl.-Volksw. Dannehl für einsatzfreudige Beratung in statistischen Fragen.

Eidesstattliche Erklärung

Wir versichern an Eides statt, daß wir vorliegende Dissertation ohne unerlaubte Hilfe angefertigt, das benutzte Schrifttum vollständig erwähnt haben und daß die Dissertation noch von keiner anderen Fakultät abgelehnt worden ist.

Düsseldorf, Essen, den 1. 11. 1983

Lebenslauf

Geboren wurde ich, Iris Vollrath, am 5. 1. 1960 als Tochter der Eheleute Margarete und Hans Vollrath in Essen, Nordrheinwestfalen.

Nach Grundschulbesuch (1966 - 1969) und Gymnasialzeit (1969 -1978) bestand ich im Jahr 1978 das Abitur an der Viktoriaschule, Essen.

Seit dem Wintersemester 1978 studiere ich Zahnmedizin an der Universität Düsseldorf.
Das Staatsexamen bestand ich am 31. Oktober 1983.

Essen, den 1. 11. 1983

Iris Vollrath

Lebenslauf

Am 10. August 1959 wurde ich, Thomas Stevens, als Sohn der Eheleute Inge und Heinrich Stevens in Wesel, Nordrheinwestfalen geboren.

Von 1966 bis 1969 besuchte ich die katholische Grundschule in Friedrichsfeld.
Von 1969 bis 1978 besuchte ich das Städtische Gymnasium Wesel Nord, wo ich 1978 mein Abitur bestand.

Das Studium der Zahnheilkunde begann ich im Wintersemester 1978/79 an der Universität Düsseldorf.
Das Staatsexamen bestand ich am 31. Oktober 1983.

Düsseldorf, den 1. 11. 1983

Thomas Stevens